ANTONIO DE GREGORIO ROCASOLANO
DOCTOR EN CIENCIAS
CATEDRÁTICO DE QUÍMICA GENERAL DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Estudios Químico Físicos sobre la Materia Viva

2.ª EDICIÓN

ARTES GRÁFICAS
G. CASAÑAL
ZARAGOZA. — 1917

43042

1
72.995

ESTUDIOS QUÍMICO FÍSICOS

SOBRE LA

R 56508

MATERIA VIVA

POR

Antonio de Gregorio Rocasolano

DOCTOR EN CIENCIAS
CATEDRÁTICO DE QUÍMICA GENERAL
DE LA
UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

2.ª EDICIÓN

ZARAGOZA
TIPOGRAFÍA DE GREGORIO CASAÑAL, COSO, 98
1917

Es propiedad del autor.

Todas las figuras que documentan esta obra, excepto algunas del capítulo IV, son originales y han sido obtenidas por el Autor en su Laboratorio.

PRÓLOGO

¿Cuál es la causa o las causas de las diversas manifestaciones vitales que constituyen la vida? Entre la materia inerte y la materia viva ¿existe realmente una solución de continuidad?

Las investigaciones científicas que tratan de resolver los problemas contenidos en esas preguntas, apasionan mucho, tanto al hombre menos instruído como al sabio más erudito y es lógico que así suceda, porque entrañan el secreto de la vida cuya resolución, según proclaman muchos definidores, ha de estar siempre oculta para el hombre; el velo del misterio, dicen, no se levantará jamás y ha de estar siempre fuera del alcance del investigador, el mecanismo de los fenómenos vitales.

Estas afirmaciones nos parecen una de tantas obsesiones del espíritu humano, por las que se encastilla en una negación, cuando por propia naturaleza debe amplia y generosamente, alentar todo trabajo y acoger sin hostilidad, cuantos la investigación científica produzca, con los necesarios requisitos de exactitud. No es lógico ni científico calificar de locura o necedad, el empeño con que muchos investigadores trabajan, para hacer desaparecer el abismo clásico que separa la materia inerte, de la materia viva.

La facilidad con que el hombre se equivoca cuando hace tan rotundas afirmaciones dentro de los dominios de la Ciencia experimental, la encontramos sin citar equivocaciones remotas, que pueden considerarse como errores de época, en afirmaciones hechas en fechas no muy lejanas. Augusto Compte, refería como cosa eternamente imposible, conocer la composición química de las estrellas, y unos años después, Kirchhof y Bunsen, estableciendo las bases del análisis espectral, iniciaron un nuevo método de trabajo por el cual se analizan las radiaciones que llegan a la tierra, y por este análisis se deduce la composi-

ción química de las estrellas, más aun, la de las nebulosas, demostrando así la unidad en la composición de todos los astros cuyos componentes elementales, son los mismos que se encuentran en la tierra.

Cuando la Química se encontraba en pleno período analítico, los maestros de aquella época, Bercelius y Liebig entre ellos, afirmaban de una manera rotunda que en los Laboratorios, *in vitro*, no podría nunca el hombre obtener compuestos orgánicos partiendo de materias minerales, apesar de estar formados unos y otros por los mismos elementos, porque la formación de las materias orgánicas se realizaba por intervención de otras fuerzas que las que integran la materia mineral y efectivamente, en 1828, Woehler obtuvo la urea por síntesis, y este trabajo fué el punto de partida para que la Química comenzara un período sintético, en el que ha realizado sus más valiosas conquistas prácticas y teóricas, determinando en la época actual el hecho de que sea en algunos grupos de compuestos más rico en variedad de especies el Laboratorio, que la Naturaleza. Así quedó anulada de manera definitiva otra frontera de las que el hombre cómodamente coloca para satisfacer la vanidad de afirmar ser imposible conocer algunas cosas de las que no conoce. Entre los compuestos inorgánicos y los orgánicos no hay solución de continuidad; ha quedado demostrada la unidad de composición, la identidad de fuerzas.

Pero apenas llegada esta consecuencia, en 1835, Dumas afirmaba sugestionado por las apariencias paradógicas de los hechos, que la vida era la suspensión de las leyes generales de la materia, estableciendo profundas y esenciales diferencias entre la materia orgánica y la organizada, diferencias que de hecho existen, pero interesa mucho detallar si son esenciales o si solamente son variaciones del más al menos. Para diferenciar la materia viva de la inerte, se comparan una serie de propiedades; la bioquímica y la biofísica, las estudian ayudadas por sus más poderosos medios de investigación y es ya lícito pensar, que los cambios químicos correlativos a los fenómenos vitales, no obedecen a ninguna ley particular distinta de las leyes físicas y químicas, pudiendo afirmarse que todas las leyes de las transformaciones de la energía, se cumplen de una manera idéntica en

el mundo inorgánico y en los seres vivos. De manera análoga es lícito también pensar que entre la materia inerte y la materia viva no existe solución de continuidad, como no la hay tampoco, entre dos estados físicos inmediatos, el líquido y el gaseoso por ejemplo, aun cuando presentan dos apariencias distintas, como no existe entre la materia orgánica y la inorgánica, aunque se establecen en orden químico diferencias de alguna importancia.

Este aspecto de cuestión tan debatida, no llega en último término más que a establecer, tomando base en las ciencias de la Naturaleza, la unidad de la Creación, que dentro de la inmensa variedad de seres y de fenómenos conocidos, da un cáracter de suprema belleza a la obra del Creador.

Y queda expuesto el objeto de este libro, en el que particularmente detallo las modestas investigaciones personales que he podido realizar en el Laboratorio de Investigaciones bioquímicas que he fundado en el de Química general de la Facultad de Ciencias de Zaragoza, Laboratorio, que aunque no tiene estado oficial, de hecho existe hace unos años, como lo demuestra el trabajo que en él se realiza.

Con estos trabajos como base, expusimos en los Estudios de Ampliación organizados por la Facultad de Ciencias de Zaragoza, en el año escolar 1915-1916, un curso de Química biológica, de Octubre a Marzo, tratando especialmente de algunos estudios químico físicos sobre la materia viva, y fué grande nuestra satisfacción y nuestra sorpresa, cuando vimos que un curso tan especializado en el que esperábamos reunir 15 ó 20 alumnos, comenzó con una asistencia de 165, que se sostuvo y aumentó en el transcurso de las veinte lecciones expuestas, para terminar con más de 200 oyentes. El interés y la bondad con que fueron acogidas mis lecciones y el deseo manifestado por muchos de ver publicada la materia que expuse, me han decidido a publicar este libro, sin darle la forma de conferencias, porque creo que ha de ser así más útil al lector. La Universidad de Zaragoza tiene conmigo la atención, que mucho agradezco, de publicarlo en sus Anales.

Sin que esto tenga más alcance que un acto de sinceridad y una explicación sobre la elección de algunos métodos de tra-

bajo, debo advertir, que no todas mis investigaciones tienen la precisión que desearía, porque no he dispuesto de más medios de trabajo que los que posee el Laboratorio de mi Cátedra de Química general y los pocos que personalmente he podido proporcionarme, pero como el dilema es, trabajar como se pueda o no trabajar, he trabajado como he podido y el lector juzgará.

CAPÍTULO I

IDEAS PRELIMINARES

CONSTITUCIÓN DE LA MATERIA

La unidad material átomo, que en el concepto químico es la menor cantidad de un cuerpo simple que puede entrar en combinación, era considerada hasta hace muy pocos años como indivisible: hoy se la considera como un agregado del que forman parte *electrones* en constante estado de agitacion y atraídos hacia el centro del átomo, por una electricidad positiva repartida en la esfera atómica (Lord Kelvin), o por un centro positivo alrededor del cual giran (Lorenz y Lamor). Un agrupamiento electrónico, sometido a un movimiento en torbellino, forma el átomo y de la reacción originada por el éter ambiente, se deriva una tendencia a la concentración del sistema. Divisibilidad del átomo.

La unidad átomo, es el elemento de construcción de la materia, pero de ningún modo una unidad indivisible, porque está formado por la reunión de unidades más sencillas, entre ellas los electrones en equilibrio cinético, siendo las propiedades del átomo, consecuencia de propiedades electrónicas. El considerar el átomo como agregado de electrones en equilibrio cinético, es una consecuencia fundada en investigaciones de muy diversa naturaleza: se deduce del estudio de la conductibilidad metálica, del de las disoluciones que son electrolitos, de las cuales se separa un átomo gramo, por 96537 culombios por valencia química; del estudio de la luz considerada hoy como formada por ondulaciones electro magnéticas de determinada frecuencia; de la acción de campos magnéticos sobre luz polarizada, en los cuales se demuestra que la partícula emisiva tiene una carga

eléctrica, demostrando el fenómeno de Zeeman que las constantes físicas de estas partículas son las del electrón.

Concepto del electrón.

Los electrones son átomos de electricidad, cuya existencia han puesto en claro entre otros fenómenos los de radiactividad: los cuerpos radiactivos están formados por átomos que espontáneamente emiten partículas electrizadas (rayos β), de las que determinadas sus constantes físicas, se encuentra que son las de los gránulos, átomos eléctricos o electrones; y esos átomos radiactivos, agitados en su equilibrio cinético, expulsan además de electrones, partículas materiales electrizadas de mayor tamaño que el electrón, átomos de helio, quedando así el átomo primitivo convertido en un resto que no es evidentemente el de que se partió, tiene otra masa y nuevas propiedades: resulta de estos hechos, que en el interior del átomo existe una energía cinética considerable, pudiendo llegar a concebir que los electrones, conectados con el átomo, poseen una fuerza viva enorme.

Los átomos de gran peso atómico, los más pesados, los radiactivos, expulsan constantemente electrones y iones electrizados, transformándosen a su vez en átomos menos pesados, capaces de expulsar de nuevo electrones y convertirse en átomos más ligeros que a su vez se desintegran; luego en el concepto químico actual de cuerpo simple, unos cuerpos se transforman en otros, reduciéndose el papel del hombre, al de simple observador de estos fenómenos, en los que no puede hasta hoy ni aun modificar su velocidad, mucho menos provocarlos.

En la formación de los distintos cuerpos simples no hay otras diferencias que el formar en unos o en otros diferentes agrupaciones electrónicas, construyendo edificios atómicos distintos, con distinta energía y fuerza viva acumulada. Este electrón, es el mismo, sea cualquiera el tubo de Crookes que lo libera, la naturaleza de los electrodos o los restos de gas que le llenan, como si el electrón, fuera una substancia primordial de que los átomos están compuestos, hecho del que puede deducirse que la materia es una, única en su origen, y esto puede admitirse aun cuando falte todavía la prueba experimental de pasar de unos cuerpos simples a otros, en todos los casos, a voluntad del experimentador.

Resulta que el electrón es una unidad universal con la que

se edifica la materia y con arreglo al principio de la conservación de energía, con solo las fuerzas electrónicas, podemos considerar formados los cuerpos simples.

Teoría eléctrica de la materia.

Hay, pues, una hipótesis que se denomina «teoría eléctrica de la materia» que supone el átomo formado por electrones positivos y negativos de manera que forman un sistema estable agrupados los electrones positivos en el centro del sistema (Guye)[1] (*) y repartidos los negativos en la parte más excéntrica. Según estas ideas, la energía que los átomos deben contener acumulada ha sido calculada por Drumeaux[2] resultando que un gramo de materia debe contener 2.10^7 caballos hora, cifra tan enorme, que constituye realmente una dificultad para concebir la teoría eléctrica de la materia. Lord Kelvin y Thomson[3] suponen que la electricidad positiva se distribuye de una manera uniforme en el interior de una esfera que contiene electrones negativos y éstos toman en el espacio atómico una posición que depende de su número, resultando tanto más complicada la configuración del átomo, cuanto mayor sea el número de estos corpúsculos.

Según las ideas de Ramsay, el electrón debe colocarse en la lista de los cuerpos simples, y siendo su peso atómico 2.000 veces menor que el del hidrógeno, la materia eléctrica resulta, según estas consideraciones, la más sencilla, y por consiguiente la primordial.

La materia formada por un agregado de unidades materiales y electrones.

Otra hipótesis y ésta parece más racional, supone constituída la materia por una mezcla de electrones y unidades materiales, resultando unidas electrostáticamente, las partículas materiales positivas por interposición de electrones negativos: el estudio de los rayos α desprendidos por los cuerpos radiactivos, permite suponer que las partículas positivas, son de magnitud atómica y resulta probable, que el átomo de hidrógeno, constituya el elemento material primordial, que forma todos los otros cuerpos simples, al unirse con átomos de electricidad.

Recientemente, Guye[4] ha llamado la atención sobre el interés que presenta para el estudio de los fenómenos interatómicos el empleo de un sistema de unidades y propone tres unida-

(*) Estos números se refieren a la nota bibliográfica que va al final de cada capítulo.

des fundamentales: la carga del electrón e_0, la inercia del electrón a pequeñas velocidades m_0 y la velocidad de la luz en el vacío V, relacionados estos tres valores por la fórmula teórica

$$m_0 = \frac{2}{3} \frac{e_0^2}{aV}$$

en la que a representa el radio de la esfera sobre la que se reparte la carga e.

Unidad de la materia.

Expuestas estas ideas, no tiene interés para el objeto que nos proponemos, el desarrollarlas y demostrar, que puede admitirse como muy lógica la idea de la unidad de la materia, como la de la unidad de la energía, y yendo todavía más lejos, se establecen hipótesis, segun las cuales, la materia no es otra cosa que energía condensada. Basta, á nuestro objeto, admitir esta teoría de la unidad de la materia como un hecho real, susceptible de interpretaciones distintas. Prout,[5] en 1815, conceptuaba al hidrógeno como la materia primordial y a los cuerpos simples como polimeros de este elemento químico, idea apoyada más tarde (1857) por Dumas, admitiendo que los pesos atómicos de los cuerpos simples eran múltiplos exactos de los del hidrógeno, y abandonada después, por consecuencia de los delicados trabajos de Stas sobre determinaciones de pesos atómicos, de los que dedujo, que no existiendo un máximo común divisor de los pesos atómicos, las ideas de Prout, eran erróneas. En estos últimos años, el estudio de la radiactividad ha puesto muy en claro este asunto; la separación de átomos de helio de los átomos de radio, de uranio, etc., prueba que esos átomos existen en los átomos de los elementos radiactivos, y como el peso atómico del helio con relación al hidrógeno es exactamente 4, puede suponérsele formado por la unión de cuatro átomos de hidrógeno. Aparte estos hechos, los notables trabajos de Norman Lockyer,[6] sobre la composición química de los astros, contribuyen con un poderoso argumento a favor de la hipótesis que supone el hidrógeno como materia primordial universal. Deduce este investigador, como consecuencia de sus observaciones, que la materia simple evoluciona y que bajo la influencia de muy altas temperaturas, los cuerpos simples se disocian progresivamente, para llegar a las formas primitivas, hidrógeno,

moléculas; esta energía total está compuesta, por la energía de movimiento de los centros de gravedad de las moléculas, mas por la fuerza viva del movimiento de rotación de éstas, mas de las vibraciones realizadas por los átomos en la molécula misma. Este último componente se denomina *energía interna* del sistema (Clausius), y varía siempre que los cuerpos experimentan una transformación química, pudiendo conceptuarse la *energía química*, como el componente principal de la energía interna: la intensidad de energía química, varía de unos cuerpos a otros, es el origen de las transformaciones de energía que en las reacciones químicas se verifican, y aparece como una forma de energía potencial, que únicamente se manifiesta cuando los cuerpos se encuentran en condiciones de verificar una transformación química. La termodinámica, da una definición precisa de esta energía interna y mide numéricamente, si no su valor total absoluto, las variaciones que sufre.

Es artificial la división de la materia en mineral y orgánica.

Las ideas generales expuestas, se aplican hoy absolutamente a todos los cuerpos, sean orgánicos o minerales, en los que se reconocen los mismos elementos químicos para la formación de sus moléculas, las mismas fuerzas interviniendo en su formación y las mismas leyes generales dirigiendo los fenómenos que en todas las reacciones químicas se verifican. Hace menos de un siglo, se separaban los compuestos minerales de los orgánicos, aun después de reconocer la unidad de composición, porque se admitía, simplemente porque nada se había demostrado en contrario, que las especies orgánicas eran producidas exclusivamente por la intervención de la *fuerza vital*, sin la cual se consideraba imposible producir ningún cuerpo de los construídos en los organismos vivos. La síntesis de la urea realizada por Woehler en 1828 y todos los trabajos de síntesis química, que a partir de esa fecha se han hecho, han demostrado plenamente que no sólo la misma materia, sino las mismas fuerzas, intervienen en la formación de los compuestos minerales u orgánicos, entre los cuales no existe más frontera, que la que convencionalmente ha establecido el hombre por razones que ya solamente tienen un relativo valor pedagógico, fundadas en una porción de propiedades diferenciales que ninguna de ellas tiene carácter fundamental, en las que fundan una división de la Quí-

mica, que todavía persiste, en Inorgánica y Orgánica, cuyo valor estriba únicamente, en que facilita la exposición de hechos y dicen que también el estudio de la Ciencia Química.

Queda pues establecido, que la división de los cuerpos en minerales y orgánicos es perfectamente artificial; el hombre ha establecido, como otras muchas, esta división que no existe en la Naturaleza y se deduce de aquí el primer fracaso de la fuerza vital como causa misteriosa que presida la formación de los compuestos orgánicos, modificando las fuerzas que rigen la formación de los compuestos minerales. Aplicada a la formación de las especies orgánicas, la fuerza vital no ha tenido realidad más que en la imaginación de los filósofos y los ensayos de síntesis de los compuestos albuminoideos, a que más adelante nos referiremos, demostrando que ni las albúminas, cuya síntesis, por lo difícil que es, no se consiguió orientar hasta hace pocos años, son ya para el químico «nebulosas irresolubles» ni hacen excepción a la Química sintética.

Seres vivos e inertes

La materia orgánica y mineral, en conjunto, forma asociaciones que presentan con las especies químicas, y aun con la reunión de especies químicas que el hombre agrupa, una serie de propiedades diferenciales, estimadas como fundamentales, y que dan lugar a clasificar los seres en *vivos e inertes* y del mismo modo a la materia en *viva e inerte* y así llegamos a plantear la cuestión que más nos interesa para el objeto que nos proponemos. Vamos a estudiarla, tomando como base la idea de que es un problema de gran interés para las Ciencias Naturales, el de reducir a la unidad la múltiple serie de fenómenos que se estudian y que para llevar el asunto a su verdadero terreno, debe tenerse en cuenta (Kant) que es un deber científico elemental explicar mientras podamos, por las propiedades de la materia y las formas conocidas de la energía, los fenómenos que con transformación de materia se producen.

CONCEPTO DE LA VIDA

«La vida, dice Aristóteles, es el principio substancial que hace que un ser se mueva a sí mismo»; concepto que desarrollado por Santo Tomás de Aquino [8], concreta más el carácter de

ser viviente diciendo: «son vivientes las cosas que se llevan a algún movimiento u operación; y las que no poseen en su naturaleza, el excitarse a un movimiento u operación, no pueden llamarse vivientes si no es por vía de semejanza.» La vida tiene por particular atributo, no meramente el movimiento, sino el que la virtud que le mueve se encuentra embebida en el mismo ser en tal grado, que cuanto más íntima e identificada con su existencia poseyera un ser esta actividad, más alta vida gozará [9]. Viven todas las cosas que dentro de sí poseen el principio de su propia operación.

De esta doctrina se deduce, que la vida exige principalmente tres condiciones. 1.ª: Que el principio de movimiento u operación, sea interno; no es vital el movimiento de una piedra que cae. 2.ª: Que el término de la acción vital sea el mismo viviente; las operaciones vitales terminan con el sujeto que las posee. 3.ª: El ejercicio de la vida envuelve perfección del viviente, porque un ser viviente es el principio y el término de su movimiento vital; claro es que el ejercicio, o acto segundo de la vida, lleva consigo una actualidad o sea una perfección sujetiva del viviente como viviente.

Los seres inteligentes, son más perfectos que los animales dotados solamente de instinto y éstos que los vegetales que careciendo de instinto sólo ejecutan movimientos acomodados a su ruda capacidad, y así se justifica la definición que de los seres vivientes dan los escolásticos, diciendo que, además de la naturaleza y perfecta determinación que les viene de fuera, exigen actuarse así mismos por operación de suyo inmanente.

La vida, según puede deducirse de estas ideas, será tanto más perfecta, cuanto en más alto grado posea las condiciones que completan la interna actividad. El principio y causa de la vida es el alma, siendo la vida efecto del vigor del alma a la que por esta causa, se la llama *spiraculum vitæ*, luego el alma es principio de la vida del cuerpo y elemento intrínseco que junto con el cuerpo constituye la naturaleza del viviente.

Definiciones de la vida.

Varios otros conceptos o definiciones de la vida se han dado, insuficientes todas (Cl. Bernard), muchas de ellas recopiladas por el fisiólogo Beaunis, pero en la mayoría de ellas, solo se atiende para definir, a los efectos de la vida. Bichart define diciendo: «La

vida es el conjunto de las funciones que resisten a la muerte»; definición que comenta el Dr. Cerise diciendo, que resistir los esfuerzos exteriores que destruyen los seres vivos, implica la idea de una fuerza distinta a las influencias físico-químicas. Beclard dice, «La vida es la organización en acción». Treviranus dice, «La vida es la uniformidad constante de los fenómenos con la diversidad de las influencias exteriores. Fluorens, «La vida es una forma servida por la materia». Spencer, «La vida es la adaptación continua de las relaciones internas con las externas». Le Dantec, «La vida es el resultado de una coincidencia entre las condiciones extructurales internas y las condiciones externas del medio [10]» y todavía puede citarse la célebre paradoja de Cl. Bernard «La vida es la muerte», queriendo significar que la actividad vital se manifiesta, por una destrucción de los tejidos que funcionan.

Las manifestaciones vitales de la materia, se suponen según las ideas de muchos filósofos y algunos biólogos (los vitalistas), como consecuencia de un principio o agente distinto esencialmente de la energía que forma con la materia los cuerpos inertes. Este principio o causa, que también denominan la forma o la fuerza vital, reside en la materia, no es material y le suponen irreductible a las leyes de la Física y de la Química, siendo algo muy distinto a la energía productora de los fenómenos físicos y químicos.

Vitalismo.

Para encontrar la primera exposición científica del vitalismo, hay que llegar hasta los tiempos de Aristóteles con su teoría del alma triple. Modernamente, el Profesor Driesch de Heidelberg, ha vigorizado estas ideas tanto que, para algunos, sus trabajos son pruebas decisivas en favor de la fuerza o principio vital [11]. Los trabajos de Driesch sobre los fenómenos de autoregulación, de regeneración y de restitución, llevan a su autor a la consecuencia, de que no son reductibles a fuerzas físico-químicas [12] ni a meros organicismos, sino que hay algo distinto que preside y dirige a lo que el autor llama *potencia prospectiva* o *entelequia* conservando con este nombre la denominación de Aristóteles, aunque lo que para Aristóteles era una realidad, que reside en la materia viva, para Driesch sería un factor especial de explicación. Comentando Donau la obra de Driesch, dice, [13] que es la expo-

sición más sólida que existe del vitalismo y que ninguna doctrina mecanicista de la vida podrá constituirse, sin antes señalar los errores de la obra de Driesch.

Hipótesis mecánicas.

La explicación de los fenómenos vitales por hipótesis mecánicas, tienen su origen según todos los autores, en Descartes que parodiando a Arquímedes, decía, «Dadme materia y movimiento y os construiré el Universo»; pero antes que Descartes, el español Gómez Pereyra, médico de Medina del Campo, escribió un libro que intitulaba «Antoniana Margarita» en el que se esforzó en demostrar que los brutos carecen de alma sensitiva, y todavía un ilustre filósofo de la antigüedad, Dicearco, discípulo de Aristóteles, cuyos escritos tanto apreciaba Cicerón que les llamaba «mis delicias», afirmó [14] que los hombres carecen de alma, diciendo que la sensación y conocimiento dependen precisamente de la disposición material de la máquina y negando todo otro principio, espíritu o forma, distinto de la materia.

Actualmente muchos biólogos suponen que no existe más que materia y energía, siendo suficientes estos factores, para explicar absolutamente todos los fenómenos vitales, dependiendo las diferencias que entre la materia viva y la inerte se aprecian, de las particulares propiedades que la materia viva presenta, por consecuencia de los variables grados de dispersión que en ella adopta la materia.

He aquí planteado el problema del concepto de la vida en dos términos bien opuestos: de una parte, los fenómenos vitales producidos por consecuencia de una causa interna, un principio o fuerza vital que produce los fenómenos característicos de la vida, esencialmente distintos de los observados en la materia inerte, y de otra, se busca una explicación de los fenómenos vitales en causas físico químicas o mecánicas, idénticas a las que producen los que se estudian en la materia inerte.

Los psicobiólogos denominan *autotelcología*, la finalidad que se observa en el modo de ser y obrar de los seres orgánicos y considerada esta finalidad totalmente distinta a la que se ve en las leyes de la Física y de la Química, la suponen irreductible a sus principios deduciendo como consecuencia, [11] que en los organismos vivos es preciso admitir una causa especial y ade-

cuada de donde dimane esa actividad, distinta de la que muestran los seres inertes.

Por otra parte, el Profesor Loeb del Instituto Rockefeller, asegura [15] que el conjunto de los fenómenos vitales, podrá ser expuesto en términos físico-químicos y nuestra vida social y ética, tendrá una base científica en armonía con los resultados de la Biología científica, establecida a raíz de las investigaciones de Lavoisier y Laplace (1770) sobre el calor animal, que compararan con un proceso físico-químico.

No tiene interés para el objeto que nos proponemos, citar testimonios de los más ilustres mantenedores de las doctrinas que se sostienen en uno y otro campo, ni mucho menos, detallar argumentos en contrario, de materia que siempre es objeto de enconadas discusiones, por ser este un asunto de los que más apasionan los espíritus.

Las variadas ideas que sobre esta cuestión emiten los biólogos, pueden reducirse a las dos tendencias expuestas [16], como así mismo lo hace Prenant [17], denominando a los primeros, *vitalistas dualistas* y a los segundos, *monistas materialistas.*

Creemos sin embargo, que variando algo los términos de la cuestión, es posible que las dos tendencias sean compatibles, limitándolas y aceptando la idea de que la vida puede, para su estudio y por su origen, fraccionarse en dos aspectos, regido el uno por las ideas *vitalistas dualistas*, que constituyen la doctrina de los escolásticos, y el otro por las de los *monistas materialistas* que solo admiten la materia y la energía que se encuentran en todos los cuerpos, vivos o inertes, como productoras de los fenómenos naturales.

Las formas substanciales según Santo Tomás.

El Angel de las Escuelas, que ha visto estas cuestiones con mayor clarividencia que filósofo alguno, dice textualmente hablando de las formas substanciales en los vivientes [18]: «Unos filósofos dicen, que el agente natural solamente dispone la materia; la forma, que es la perfección última, proviene de principios sobrenaturales, *cuya opinión es falsa por dos razones.* Primera: porque como el ser de las formas naturales y corporales no consista sino en la unión con la materia, el mismo agente parece ser el que *las produce*, que *el que transforma la materia.* Segunda: porque como las formas de la misma no excedan a la vir-

tud orden y facultad, de los principios agentes en la naturaleza, *no parece haya necesidad de reducir el origen de las mismas en principios más altos*»; y más adelante, tratando la misma cuestión continúa: «de este género de formas *hay qué excluir al alma racional* porque es substancia por sí subsistente, que puede existir, unida o separada de la materia.»

Términos en que debe plantearse el concepto de la vida.

Teniendo el cuidado de separar, de hacer una excepción para el alma humana, las fuerzas que se manifiestan en los cuerpos inertes, *las que transforman la materia*, bastan para explicar los fenómenos vitales, siendo éstos, aquéllos por los que se realizan las transformaciones múltiples que la materia de los seres vivos sufre sin cesar; en una palabra, la vida que solo puede comprenderse en la materia, aun en la cantidad mínima donde los fenómenos vitales pueden realizarse, que es en el concepto, clásico actual la célula. Aparte de esta forma de vida, e independientemente de esta vida material, aunque conectada con ella durante un corto espacio de tiempo, hay para el hombre una vida espiritual con principio y sin fin, la del alma humana que en unión íntima con la vida material, da lugar a una serie de fenómenos que no tienen explicacion si para explicarlos, queremos buscar base en la Física y en la Química o en la Mecánica.

Nos parece tan fuera de razón buscar en principios más altos la causa de fenómenos vitales, como por ejemplo, el movimiento de un músculo, los de nutrición, etc., como afirmar que el contenido moral de la vida del hombre, deseos, esperanzas, ilusiones, sufrimientos, etc., etc., se expliquen por fenómenos físico-químicos. Suponemos cierto, que los seres vivos ponen en juego para sus cambios naturales la energía y la materia y con solo estos dos factores pueden encontrar explicación satisfactoria multitud de fenómenos vitales; pero los fenómenos propios de la vida superior, como la aptitud para comparar sensaciones, de donde resulta el pensamiento, los actos de razon, los estados de conciencia, etc., son actos de una vida inmaterial que se sirve de la materia y de la energía para recibir sensaciones, pero que de ellos resulta el juicio, el recuerdo, que de ningún modo son actos de transformación material. Augusto Compte, fundador del positivismo francés, afirmaba[19] que la sensibilidad no puede reducirse a un fenómeno físico o químico.

Admitiendo cualquiera de las dos escuelas en toda su pureza, no hay posibilidad de estudiar razonadamente todos los fenómenos que en conjunto determinan la vida; haciendo una excepción para el alma humana, única substancia que constantemente se crea, pues para la materia y para la energía el día del descanso dura todavía (Bosuet), pueden explicarse los fenómenos vitales dentro de las ciencias experimentales, tomando como base la Física, la Química y la Mecánica, así como también las Matemáticas más allá del cálculo de probabilidades[20], aunque las ecuaciones biomecánicas, siendo físicas, químicas o mecánicas, son de orden superior y con gran número de variables.

Si no se hace la excepción del alma humana y absolutamente todos los fenómenos vitales quieren explicarse con ayuda exclusiva de las ciencias experimentales, se cae en una doctrina que es una ética química, como la enunciada por Loeb en 1912, que comenta A. J. Ferreyra[21], terminando por afirmar muy lógicamente, que ni el proceso químico ni el instinto, pueden explicar la primera ley de la moral científica. Parte Loeb de las manifestaciones más sencillas del instinto, considerando el caso de los tropismos, como la manifestación de un instinto o de una impulsión y la explica como consecuencia de procesos fotoquímicos[22], para afirmar después, que la pretendida voluntad, es producida por la acción de la luz, de la que resultan masas de productos fotoquímicos, que desarrollan energía en las partes simétricas del cuerpo, terminando por afirmar que el llegar al análisis físico-químico de nuestros actos, es solo cuestión de tiempo.

Vamos a estudiar, fenómenos físico-químicos íntimamente relacionados con la vida que tiene por base la materia y la energía, quedando separados para el filósofo, para el teólogo, para el creyente, los actos de vida superior, conectados en su primera época con los fenómenos vitales que estudiamos, para continuar su vida espiritual desligados de ellos.

En estas condiciones planteado el problema, de las dos escuelas pueden entresacarse ideas y hechos experimentales perfectamente compatibles y con ellos queda planteado el asunto en términos más razonables.

ORIGEN DE LA VIDA

Principio de la vida en la Tierra.

Cuantos han investigado sobre el origen de la vida, están conformes en afirmar, que la vida tuvo principio en la tierra, reconociendo que las primeras formaciones de la corteza terrestre, contienen solamente materia mineral sin restos de seres vivos, y nadie afirma la eternidad de la vida en la materia, aun entre los que creen en la eternidad del tiempo, del espacio y de la materia. La teoría de evolución supone un tiempo en el cual, las condiciones en que se hallaba la tierra, hacían imposible la vida, tal como hoy la comprendemos. La vida hizo pues su aparición, en un medio puramente inerte por efecto de condiciones favorables para su desarrollo o por un acto creador.

Cómo se interpreta el origen de la vida.

Actualmente puede afirmarse, que la materia viva nace en sí misma, no originándose más que de la ya existente. El problema del origen de la vida se plantea de modo distinto: creen unos, que en la serie de generaciones ha de llegarse forzosamente a un organismo primero, que no pudiendo recibir de otro la vida, la recibió directamente del Autor de la naturaleza, y creen otros, que la materia viva ha tenido un origen natural, resultante de fenómenos físico-químicos sin admitir prueba alguna de otra influencia activa. Haeckel plantea el asunto en este dilema[23] «si no se admite la hipótesis de la generación espontánea, estaremos forzados a recurrir al milagro de una creación sobrenatural».

Helmholtz, Thompson, Arrhenius y otros, sostienen la teoría de que la vida en nuestro planeta tiene su origen fuera del mismo, suponiendo Arrhenius la intervención de las ondas luminosas, para hacer llegar a la tierra gérmenes pequeñísimos que supone errantes por el Universo. Pero aun estas hipótesis no resuelven la cuestión que discuten, puesto que se parte en ellas de la preexistencia de la materia viva.

Admitido que el origen de la vida radica en un acto especial del Creador, por el cual infundió a la materia la actividad vital, queda descartada la posibilidad de que la materia inerte con su energía, forme por sí sola seres vivos, aun cuando mediante los fenómenos de nutrición se incorpore a la materia viva. Los seres

vivos son organismos donde la materia y la energía, sin cesar se transforma; pero en ellos reside ese algo misterioso generador de los procesos vitales, que dirige la acción de las fuerzas físico-químicas y que en nada se parece a ellas. Dentro de estas ideas, es perfectamente lógica la afirmación de Liebig, cuando decía: «jamás el Laboratorio ha dado ni dará una célula, una fibra, un músculo, un nervio, en una palabra, una sola parte del organismo, dotada de todas las propiedades vitales» [24].

La generación espontánea.

De estas ideas no participan muchos filósofos y biológos, ni son tampoco las de todos los teólogos, pero no cabe duda, que bajo el punto de vista de las ciencias experimentales, son las más cómodas, pues admitido como origen de la vida un acto creador, está de hecho descartado todo trabajo de investigación dirigido a desentrañar este problema.

A pesar de las muchas y muy respetables opiniones que en contrario se expresan, puede admitirse que la materia y la energía han sido creadas con propiedades por las cuales, fuera de todo acto especial de creación, haya aparecido la vida, bien entendido, que solamente la vida que indispensablemente necesita de la materia para manifestarse y hecha excepción, pero excepción única, para el alma humana.

La mayoría de los biólogos admite hoy, porque no estima suficientes los hechos que algunos oponen en contrario, la afirmación de Tiedemann [25]: «no conocemos un solo cuerpo vivo que haya nacido por la acción de fuerzas físicas o químicas» o de otro modo [26], «con todo el progreso de la ciencia no se ha obtenido un solo organismo, que no sea efecto de un germen preexistente». En la edad media se aceptaba que los insectos encontrados en la carne en putrefacción, tenía su origen en la misma carne; Ledi demostró que aquellos insectos no aparecían, si antes no se habían depositado los gérmenes en la misma carne, pero la generación espontánea aun continuo admitiéndose para los organismos inferiores, hasta que Pasteur con sus memorables experiencias la declaró imposible, y en estos trabajos se funda todo el sistema de la antisepsia.

Trabajos de Pasteur y de Maumus.

Al citar los importantes trabajos de Pasteur, recordamos como dato curioso, que las ideas de Pasteur en las que se ha fundamentado la microbiología general, fueron rudimentariamente

expuestas en una sentencia por Marco Varron, el más docto de todos los romanos, al que S. Agustín llamó *Doctíssimus Romanorum*. Afirmó M. Varron que el aire está lleno de unos invisibles insectos que entrando por la respiración en nuestros cuerpos, son causa de todas las dolencias que padecemos [27]. De qué manera, en aquella época en que el microscopio no se conocía, pudo M. Varron darse cuenta de la existencia de los microorganismos que viven en el aire, no se sabe, pero el hecho existe.

La generación espontánea, si existe, no ha sido nunca sorprendida por el hombre. Algunos biólogos admiten la generación espontánea y oponen a la afirmación de Liebig que antes hemos citado, esta otra de Bastian [28]: «Si la vida llega a obtenerse experimentalmente, ello será en un Laboratorio químico». El médico inglés Bastian hizo en el año 1870 algunos ensayos sobre la heterogénesis de los seres vivos [29], afirmando que no hay límite entre la naturaleza inanimada y la animada: por aquella época, la intervención de Pasteur estudiando estos asuntos fué decisiva y terminada su discusión con Pouchet, discutió con Bastian, hasta que en 1877, una experiencia de Pasteur, sin réplica [30], puso fin a esta discusión, demostrando que Bastian no había tenido en cuenta que a los esporos no los destruye el calor a 100° sino a 120°.

Los caldos de cultivo esterilizados, en los que la vida no aparece si no se hace previamente la siembra del microorganismo, forman un sistema aparentemente estable, que se parece en mucho a las disoluciones sobresaturadas bien conservadas. Operando Ostwald con el salicilato de fenilo (salol), le conserva fundido en tubos de vidrio cerrados y no cristaliza hasta que toca con un hilo de platino que contenga un pequeño cristal o germen cristalino: este fenómeno se repite en multitud de casos y tiene interés, la comprobación que Ostwald ha hecho de que este germen en varios casos estudiados (hiposulfito de sodio, clorato de sodio, etc.), ha de tener un peso mayor de un cierto límite para cada caso, que es de un orden de magnitud, comparable con el de los microbios [42].

Hasta 1908 Bastian no volvió a insistir en sus ideas, pero en esta fecha [31] y en 1910, presentó a la «Royal Society» una Memoria en la que detalla nuevas experiencias con las que cree

haber resuelto el problema de la generación espontánea. Estos nuevos trabajos del médico inglés, han sido refutados por Maumus de una manera completa[32] demostrando el error de las experiencias de Bastian, que ha muerto sin conocer las experiencias de Maumus contrarias a las suyas.

Respecto de esta cuestión de la generación espontánea podrá afirmarse que no tiene en la actualidad confirmación experimental, pero conceptuamos muy arriesgado afirmar que no exista ó que su comprobación sea imposible porque se presenta llena de dificultades.

Biología sintética.

La reproducción artificial de los fenómenos vitales, tiene en Biología una importancia análoga a la que en Química orgánica tiene la síntesis: la confirmación *in vitro* de las observaciones que *in vivo* se realizan, eleva el nivel de la Biología como Ciencia y son muchos los biólogos que en la actualidad trabajan en este sentido. La bibliografía sobre esta materia, se ha enriquecido mucho en estos últimos años, y un grupo de investigadores trabaja en lo que denominan síntesis de la vida, reproduciendo en medios inertes, formas y aun estructuras elementales de la materia viva. Parte de estos trabajos constituyen, según la denominación dada por Herrera en 1903, la Plasmogenia; tienen interés, porque demuestran la decisiva intervención de las acciones físico-químicas en la determinación de las formas de los seres vivos, y porque reproducen con materia inerte, algunos fenómenos considerados como exclusivos de la materia viva.

Plasmogenia.

Las publicaciones de los hermanos Mary[33], las de Víctor Delfino[34], las de Herrera[35], las de Leduc[36], las de Kückuch, etcétera y otras muchas, detallan los trabajos de investigación realizados, y por ser dato que ningún publicista ha tenido en cuenta, y en cambio hemos visto afirmaciones en sentido contrario, hacemos constar que el Sr. García Díaz, Médico que fué de la Armada, ha sido el primero que realizó en España trabajos experimentales de morfogénesis, dando cuenta de ellos en una conferencia que dió en el Ateneo de Madrid (1885) estableciendo una serie de consecuencias que publicó «El Siglo Médico» y que dió origen a una interesante controversia sostenida en la misma Revista por el autor de estos trabajos y «Un médico

de aldea»[38]. En sus experiencias el señor García Díaz, establecía cinco clases de procedimientos morfogénicos: por compresión, ejemplo, el epitelio; por suspensión, ejemplo, la fibro célula fusiforme; por difusión, la substancia homogénea con cavidades; por inyección y filtración combinados con una leve acción química, ejemplo, el tejido alveolar; calorífico neumático, ejemplo el vaso, la célula estrellada.

Los plasmogenistas, según su propia declaración[39] no tratan, *a lo menos por ahora*, de fabricar organismos semejantes a los que se mueven en nuestro alrededor, sino solamente poner en presencia cuerpos cuyas acciones recíprocas manifiestan las fuerzas y producen morfologías semejantes a las fuerzas y a las morfologías de los organismos. Este solo hecho tiene un gran interés porque para muchos, destacando entre otros la autoridad de Cl. Bernard, la materia y la forma deben separarse, porque la forma es dirigida por una actividad misteriosa y en los laboratorios sólo ha de poder estudiarse la materia, nunca la forma.

Como nuestro objeto y el de nuestras investigaciones es mucho más modesto que el que se proponen los que se esfuerzan en resolver directa y experimentalmente el problema del origen de la vida, no documentamos más las ideas expuestas que actualmente se prestan a interminables discusiones. Sin embargo, estos trabajos no deben silenciarse y merecen tenerse en cuenta, porque demuestran experimentalmente la intervención de las fuerzas físico-químicas en el desarrollo de la materia organizada, y este hecho tiene importancia, porque significa que no es necesaria la intervención de fuerza alguna distinta a las que posee la materia inerte, para producir formas de seres vivos, ya que esto se hace experimentalmente en los Laboratorios sin que por ello se trueque la materia inerte en ma-

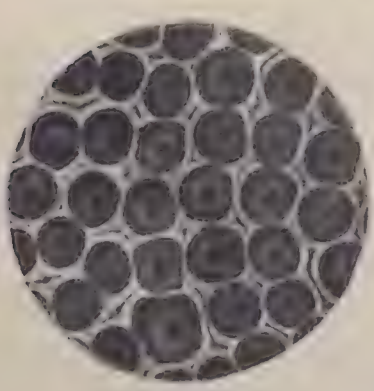


Figura 1.ª

teria viva, como en algunos casos creen los apasionados por estas ideas y como en otros casos comentan regocijadamente los que sostienen ideas contrarias, con el poco piadoso fin de satirizar la investigación opuesta a sus opiniones.

Hemos reproducido muchas experiencias de las que los plasmogenistas detallan en sus publicaciones, principalmente las descritas por Leduc[36], y entre las varias fotografías que de ellas hemos obtenido, reproducimos en la fig. 1.ª una estructura parecida al parénquima de algunas plantas, obtenida extendiendo sobre una placa de vidrio, una disolución de gelatina al 3 por 100 que contenía ferrocianuro potásico y dejando caer sobre ella pequeñas gotas de sulfato de cobre que forman el ferrocianuro de cobre y que al coagular en el medio viscoso en que se encuentran, adopta una estructura que en algo se asemeja a la de un tejido. La fig. 2.ª representa un crecimiento osmótico, obtenido igualmente sobre una placa de gelatina de mayor viscosidad que la anterior, y que contenía ferrocianuro de potasio; al añadir gotas de cloruro férrico, el azul de Prusia que se produce crece en la masa de gelatina, adoptando formas que recuerdan el desarrollo de una espora de hepática, produciendo al germinar el protonema.

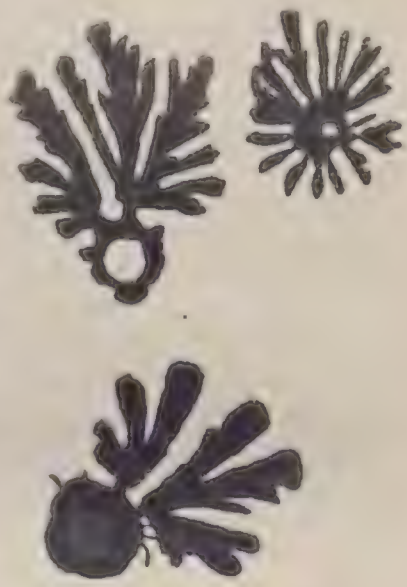


Figura 2.ª

CONCEPTO DE LA BIOLOGÍA GENERAL

La palabra Biología fué introducida en la ciencia en el año 1802, simultaneamente por Lamarck y por Gottfried-Reinhold. Más tarde, Robin y Raspail, iniciaron los estudios de Química biológica[40], en la que se estudian los procesos químicos corre-

lativos a los fenómenos vitales. Actualmente todas las Ciencias de la Naturaleza contribuyen a establecer la Biología general, estando sus distintas ramas, tan estrechamente unidas, que constituyen un haz sin que las unas estén subordinadas a las otras.

La Biología es ciencia que estudia la vida en todas sus múltiples manifestaciones. Las Ciencias Biológicas, *anatómicas*, *fisiológicas* o *embriogénicas*, se establecen después con el concepto de *comparadas* y el hecho de que después del aspecto descriptivo venga el de relacionar los caracteres deducidos, demuestra[41] que en la diversidad de formas vivientes, no hay diferencias absolutas entre las especies.

Los problemas de la Biología, estudiando caracteres de todos los seres vivos, son comunes a la Zoología y a la Botánica: cuando un zoólogo o un botánico estudia el proceso vital, hace obra de fisiólogo y entonces la Física y la Química fundamentan su labor, proyectando luz en el oscuro camino que recorre. Claudio Bernard en sus «lecciones sobre los fenómenos de vida comunes a los vegetales y a los animales» (1867), obra que después ha sido ampliada por Dastre[42], estableció la Fisiología general. La división de los seres en animales y vegetales no significa una diferenciación fundamental en sus fenómenos vitales, pues entre los dos reinos, hay analogía funcional y de ningún modo dualismo fisiológico. Los vegetales son efectivamente organismos de síntesis, cuando, por ejemplo, en su función clorofílica captan energía que procede del sol y materia que procede del aire y de la tierra; pero simultáneamente, los vegetales obran como organismos de análisis, quemando materias orgánicas y consumiendo energía en sus funciones de respiración, perfectamente análogos a los que se realizan en los animales. La físico-química de la materia viva, es una, sea vegetal o animal el organismo que la posea: la vida de las plantas, como la de los animales, implica procesos analíticos o de destrucción, producidos por acciones diastásicas.

Fisiología general.

Al establecer Bichat la Anatomía general en 1801, le dió como objeto el hacer la descripción de los diferentes tejidos simples que forman los órganos, concentrando la vida en los tejidos. Más tarde, a la noción de tejido en general se añade la del elemento anatómico o célula, desarrollando Mirbel la idea de

que el ser vivo, es un ser colectivo formado de pequeñas unidades que tienen vida propia y Turpin, insistiendo en la individualidad de cada unidad, demostró que los organismos más complejos, se derivan de una célula.

Las ideas de Bichat, cuyo error fué, indudablemente, debido a los medios de investigación de su época, se extendieron a la Fisiología, aunque después, al constituir Cl. Bernad la Fisiología general[43], afirmó que el problema se concentra completamente en el elemento histológico. Actualmente, queda reducida la Anatomía y la Fisiología general a la Anatomía y Fisiología de la célula, y Max Verwornn[44], entre otros, establece este concepto afirmando que la célula es el constituyente elemental de la materia viva, el substractum de todos los fenómenos vitales, siendo evidente que la Fisiología general, no puede ser más que una Fisiología celular.

CARACTERES VITALES

La materia de que son hechos los seres vivos, presenta tres grandes caracteres[45]; 1.º: Se conserva idéntica a sí misma; 2.º: Tiene capacidad de adaptación a su medio; 3.º: Se reproduce a sí misma y se desarrolla según una dirección determinada.

En los seres vivos, se manifiestan un conjunto de fenómenos que constituyen la vida, durante los cuales, evolucionan entre un principio y un fin, poseyendo en el transcurso de esta evolución, una cierta individualidad y una forma.

Alterabilidad de la materia viva.

La materia que constituye los seres vivos, posee una alterabilidad que contrasta (esta es la apariencia) con la estabilidad de los cuerpos inertes.

Esta propiedad diferencial se cumple siempre que comparemos términos extremos; pero abarcando el conjunto para establecer comparaciones más exactas, este carácter diferencial del que algunos (Bichat entre ellos) deducen una diferencia esencial entre la materia viva y la materia inerte, no tiene tal carácter. Muchísimos sistemas químicos claramente inertes, como por ejemplo, las rocas, sometidas como están a la acción de los agentes atmosféricos, sufren una constante transformación, de velocidad mucho menor que la de las transformaciones de la

materia viva, pero que la transformación indicadora de la inestabilidad del sistema existe, no hay duda alguna, y la diferencia que algunos califican de esencial, se reduce a una desigual velocidad, es decir a un más o un menos. Otros sistemas, no vivientes, presentan más visible este carácter de inestabilidad constante, en los sistemas coloidales, por ejemplo, y hay que concluir, que la inestabilidad química no es un fenómeno característico de la vida, aunque algunos así lo consideren. La materia inerte evoluciona sin cesar y la estabilidad que le atribuyen los que solo juzgan por la apariencia, es una transformación de pequeña velocidad. Sea viva o inerte, la materia evoluciona aunque en velocidades diferentes; considerando el mundo sideral, los astros evolucionan constantemente, aunque su evolución en conjunto sea más lenta que la de las pequeñas masas que observamos en los fenómenos terrestres.

Evolución de la materia inerte.

Los componentes químicos dispersos en la materia viva, sea cual fuere su grado de complejidad química, son productos sintéticos, formados por la unión de radicales más sencillos, verificándose esta conjunción, por las mismas fuerzas que las síntesis que se realizan *in vitro*, aunque de manera mucho más compleja, por las especiales condiciones del medio en que se verifican.

Crecimiento de los seres vivos.

Los organismos vivos, después de su aparición, crecen con aumento de masa y desarrollo de forma, presentando estos caracteres una limitación, aunque distinta para cada especie.

Este fenómeno vital está íntimamente relacionado con los fenómenos de nutrición en los cuales, el metabolismo de la materia viva no tiene, en concepto de muchos, fenómeno equivalente en la materia inerte, constituyendo la función esencial de la vida. Si comparamos el crecimiento de un cristal de sulfato de cobre, por ejemplo, en su agua madre, con el de microrganismos en su caldo de cultivo, se observa en efecto, una diferencia esencial; el cristal se nutre con moléculas dispersas en el agua, y aun con el agua misma, incorporándolas a su masa tal cual son y crece sin eliminar materia de distinta composición química que el medio de que se nutre; la materia no sufre transformación, dejando pasar el fenómeno de la formaciód del hidrato de la sal, porque no tiene interés ahora fijarnos en ese fenómeno de combinación, simultáneo con el crecimiento del cristal. Si consideramos ahora

Crecimiento de los cristales.

el microrganismo, que crece y se desarrolla en su caldo de cultivo, o el organismo que realiza estas funciones en su medio de vida, observaremos que las materias con que se nutre sufren una metamorfosis química, antes de ser asimiladas, o sea incorporadas, a su propia materia y simultáneamente el mismo organismo elimina otras substancias que él elabora y que por ser incompatibles con sus exigencias de composición química, las expulsa mediante secreciones: este es en esquema el fenómeno de la nutrición, que se considera como característico de la vida, afirmando al propio tiempo, que nada semejante se observa en los sistemas inertes.

Fenómenos de nutrición.

Los fenómenos de nutrición encuentran en la Física y en la Química las ideas fundamentales para alcanzar una explicación racional; constituyen el rasgo más característico de la vitalidad y todos los demás caracteres de la materia viva, hasta la reproducción, están subordinados a los fenómenos de nutrición.

Figura 3.ª

Crecimientos osmóticos.

Fenómenos que alguna analogía presentan con los de nutrición en los seres vivos, aunque de extrema sencillez, pueden observarse, cuando en ciertas condiciones se provoca la coagulación de algunos sistemas coloidales. Sea, por ejemplo, una disolución de silicato de sodio de $D = 18^{\circ}\ B$ puesta en una cubeta, a la que se añade un pequeño cristal de cloruro férrico; se realiza una reacción química de doble descomposición, en la que se forma silicato férrico, que se deposita lentamente en forma de gel, formando una membrana osmótica que envuelve una peque-

ña masa de líquido y que opone distinta resistencia a que la atraviesen las diferentes moléculas del sistema (fig. 3). Consecuencia de la presión osmótica que así se desarrolla es el crecimiento aparente del gel que se nutre no con moléculas de silicato sódico, ni de cloruro férrico, sino con moléculas de silicato férrico; es decir, que toma del medio, no las moléculas existentes, sino las que se forman en la reacción química de la que el crecimiento osmótico es consecuencia, no incorporando a su masa las de cloruro de sodio que simultáneamente se forman y que se dispersan en el medio de crecimiento. Este fenómeno es en lo inerte un simulacro de la nutrición; es de una gran sencillez comparado con las complejas reacciones químicas que en la nutrición de la materia viva se realizan; pero demuestra que en la materia inerte pueden observarse fenómenos que alguna analogía tienen con los de nutrición considerados como específicos y característicos de la materia viva. La fig. 4.ª representa otro de esos crecimientos osmóticos, en geles de silicato de calcio y de silicato de níquel, entre los muchos que hemos reproducido en el Laboratorio y que especialmente ha estudiado Leduc[46] con mucho detalle.

Figura 4.ª

Si para estudiarlos más cuidadosamente hacemos estos crecimientos en las cubetas de una linterna de proyección y proyectamos con bastante amplificación, se observa muy claramente una circulación por las diferentes formas tubulares y ensanchamientos, que se originan, y si alguno de estos tubos se rompe, se realiza inmediatamente una cicatrización.

La selección de materias en la nutrición celular.

Estudiando los fenómenos de nutrición celular, se ha establecido, y aun obras de muy reciente publicación lo afirman, que la película protoplásmica, regula la entrada y salida de substancias que exige el intercambio celular, *por un proceso de selección misteriosa* que no explica satisfactoriamente las leyes de la ósmosis. Y aquí aparece de nuevo la fuerza misteriosa que quie-

bra todas las leyes de la Física y de la Química. Pero en la materia inerte, pueden también observarse esos fenómenos de *misteriosa selección:* operando con una membrana de caucho como superficie de separación, observó Flusín, que el sulfuro de carbono, el cloroformo, el tolueno, el éter, y en general todos los líquidos solubles en el caucho atraviesan el tabique con velocidades proporcionales a su solubilidad, mientras que el alcohol y otros líquidos que no presenten aquella propiedad, no le atraviesan; estudiando Nernst este mismo asunto con diferentes membranas, llegó a la misma consecuencia, y así se establece, que esa elección misteriosa de las membranas celulares para dejarse atravesar o nó por distintos cuerpos, queda reducida, a la solubilidad de los cuerpos en los lipoides celulares (Overton) que forman parte de la composición de las capas límites de las células [48].

Los fenómenos de nutrición obedecen a las leyes generales de la físico-química: el carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, etc., elementos fundamentales de la materia viva, recorren en los dos reinos, a través de las unidades vivas, ciclos determinados y así la materia viva sin cesar se renueva, persistiendo la forma como manifestación tangible de la individualidad. En el transcurso de los fenómenos de nutrición se realiza una degradación energética (ley de Carnot-Clausius).

Modos de crecimiento.

Consecuencia de los fenómenos de nutrición, son los de crecimiento y desarrollo de la forma en los seres vivos, que se verifica cuando no se consume en las síntesis de la asimilación, toda la energía procedente de la degradación de la materia ingerida. Este crecimiento, se define por *intus-suscepción:* es decir, que las moléculas incorporadas, no se quedan en la superficie, sino que son trasladadas a través de las constituyentes del organismo que crece, resultando así este crecimiento esencialmente distinto, del que como el realizado en los cristales, es por *yuxtaposición*, es decir, en forma que las moléculas que se incorporan al cristal que crece, se colocan adheridas a las que forman la superficie límite: la materia incorporada a un organismo, posee propiedades que antes de su incorporación no tenía, y este es finalmente el carácter al que se concede más valor diferencial.

En los crecimientos osmóticos, claramente inertes, de ma-

terias minerales, como por ejemplo los citados u otros muchos que pueden producirse, hay crecimiento por *intus-suscepción*, las moléculas que se incorporan, no se acumulan en la superficie límite, sino variadamente en la superficie o en la misma masa del gel y la materia que al crecimiento se incorpora, tiene propiedades distintas a las de las materias en que el crecimiento se realiza, luego en la materia inerte, aparecen aunque en el mayor grado de sencillez, estas propiedades que se consideran como características y diferenciales, de la materia viva.

Por otra parte cuando se trate de comparar, debe establecerse la comparación entre términos que guarden alguna semejanza; no debe compararse el crecimiento de un cuerpo sólido como el cristal con el de un cuerpo líquido como el plasma celular. La adición de una materia líquida inerte más o menos viscosa a otra, no se realiza por superposición sino por interposición y cuando se observa el crecimiento de órganos sólidos que forman el neuro o dermato esqueleto, huesos, conchas de los moluscos, escamas de los peces, etc., se observa como en los cristales, verdadera superposición porque como en los cristales la nutrición de esos órganos se localiza en la superficie.

Los seres vivos adquieren una forma típica que tienden a restablecerse cuando algún accidente la altera, pero este carácter no es suficiente por sí solo para definir el ser viviente, pues los cristales tienen también su forma típica y reparan sus mutilaciones presentando relaciones de semejanza entre los de constitución química análoga, de tal modo, que la forma caracteriza al mineral no con menos rigor que la forma anatómica al animal o a la planta.

El obtener por métodos físico-químicos formas y estructuras que en algo se asemejan a las de la materia viva, no significa que la materia inerte se haya convertido en materia viva, pero sí puede deducirse de estos trabajos que las fuerzas físico-químicas, que la energía que posee la materia interviene eficazmente en la organización de la materia viva. Como en los seres vivos, se observa que las formas de las producciones osmóticas, evolucionan y comenzando por una forma sencilla su desarrollo da lugar a partes más diferenciadas.

El problema de la reproducción de los seres orgánicos es

uno de los más importantes de la Biología. Las células vivas, se multiplican por un proceso que es una verdadera reproducción celular, y con tal intensidad, que hace decir a Buffon[49], que la Naturaleza en general, tiene más tendencia a la vida que a la muerte, pues en cuanto la es posible, procura organizar los cuerpos, de modo que pudiera decirse con algún fundamento, que si toda la materia no está organizada, consiste en que los seres organizados se destruyen recíprocamente: la actividad de la Naturaleza para producir seres organizados, no tiene límite en sí misma, pues solo la detienen, impedimentos y obstáculos exteriores.

Fenómenos de reproducción

La reproducción de los individuos, por la que se perpetúan las especies, son los fenómenos más característicos de la vida, y no tiene interés aquí detallar el conjunto de fenómenos biológicos por los cuales, los organismos dan origen a otros organismos semejantes, fenómenos que para su estudio se separan en grupos, de ovogénesis y espermatogénesis, de la fecundación, de la partenogénesis, de la morfogénesis y por último el estudio del problema de la herencia.

El fenómeno de reproducción, tal como en los seres vivos se realiza, no tiene hoy en la materia inerte fenómeno con el que pueda identificarse; llegar a esto, sería resolver de plano el problema del origen de la vida; todos los trabajos de síntesis biológica, no han llegado a demostrar plenamente que la materia inerte presente fenómenos de reproducción idénticos a los de la materia viva. Sin embargo, los que en este género de investigaciones trabajan, dicen que el obtener la multiplicación de los seres vivos por fuerzas físico-químicas o por síntesis, es una obra progresiva[36], y debe investigarse sobre el mecanismo físico en cada período, para después ordenar los períodos o fases separadamente reproducidos.

Los trabajos que en este sentido se han realizado son muchos; los de verdadera importancia son pocos y entre estos, citamos los de Leduc sobre la intervención de las fuerzas de difusión y de presión osmótica. Hemos repetido con buen éxito estas experiencias; en algunas, hemos introducido modificaciones de viscosidad y otras, a pesar de las cuales, los fenómenos se verifican tal como su autor dice, pero sobre estas materias no

Intervención de las fuerzas físico-químicas en el desarrollo de la carioquinesis.

nos parece oportuno insistir aquí, pues se prestan más a la discusión que a la exposición de hechos concretos.

La representación del fenómeno de la división carioquinética de las células operando en medios inertes, puede hacerse del modo siguiente (Leduc): sobre una placa de vidrio se extiende una disolución de gelatina al 3 por 100, y se deja después caer una gota de disolución de gelatina pigmentada con tinta china que representa los cromosomas (gota del centro en la figura 5.ª). Las gotas extremas, representativas de los centrosomas son de disolución concentrada de cloruro de sodio (gran presión osmótica), pigmentadas con eritroxina. Por la acción de fuerzas derivadas de la difusión y de la presión osmótica, se observa en el desarrollo del fenómeno, una serie de transformaciones en la forma y en la estructura de las gotas sembradas en la gelatina, que recuerdan en orden sucesivo y regular las transformaciones y movimientos de la división del núcleo celular. Las fotografías de la fig. 5.ª las hemos escogido entre las que forman una cinta cinematográfica que hemos impresionado en nuestro Laboratorio, y que representa la totalidad del fenómeno.

Figura 5.ª

El proceso de evolución de forma, que en esta experiencia es muy parecido en algunas fases a la que en la carioquinesis celular se detalla, se observa bien, no en las fotografías adjuntas, que por su pequeño tamaño no se prestan a esta observación ni aun en la experiencia original directamente; pero se reconocen muy bien al amplificar la imagen en la proyección cinematográfica, con detalles de cambio de estructura que no precisa consignar aquí.

Sobre el mecanismo íntimo de los fenómenos de carioquinesis no puede darse una explicación precisa: la experiencia de síntesis que acabamos de citar, demuestra la intervención de fuerzas físico-químicas en el desarro-

llo de esa fuerza de multiplicación celular, pero no explica el fenómeno de una manera completa como tampoco lo explica la hipótesis de Strasburger, fundada en el quimiotactismo de los centros directores, ni las ideas de Van Beneden, Boveri, Herwig, etcétera; pero basta a nuestro objeto dejar demostrado, que la única explicación racional vendrá del lado de la físico-química.

Otras muchas experiencias ha realizado también Leduc, investigando sobre las fuerzas que pueden intervenir en el fenómeno de la multiplicación por segmentación, experiencias sobre reproducción por síntesis de estos fenómenos, que a quien le interese conocerlas, debe consultar la publicación original[35].

Intervención de las acciones químicas en la fecundación.

El Profesor Stockard[50] en sus investigaciones, realizadas en la estación biológica de Woodshall, descubrió que la adición de una pequeña cantidad de cloruro de magnesio al agua de mar, ocasiona notables cambios en el desarrollo de los huevos de los peces. De estos trabajos se deduce, que una modificación en la composición química del medio, trae como consecuencia, una notable transformación en el desarrollo.

Por otra parte, las investigaciones experimentales de Mead[51] y de Loeb sobre la naturaleza del fenómeno de la fecundación, les llevaron a realizar experiencias[52] de partenogénesis artificial, de cuyos trabajos deduce su autor la consecuencia, de que el problema de la fecundación debe estudiarse dentro de la Física y de la Química. Los citados autores, e independientemente de ellos Matthews[53], han demostrado, que ciertos huevos pueden experimentar el correspondiente desarrollo, independientemente de la fecundación normal, por la acción de diferentes compuestos químicos: antes, un huevo que no hubiera sido fecundado, debía perecer, hoy por efecto de una acción química, puede evolucionar y producir un organismo vivo. Se impone pues[54], atribuir a acciones químicas, esos importantes procesos vitales.

Antisépticos y tóxicos.

Otro carácter de la materia viva considerado también, antes más que ahora como diferencial de la materia inerte, es la acción de los antisépticos y de los tóxicos: por acción de los antisépticos, los fenómenos vitales se refrenan o se anulan, y por los tóxicos, a dosis suficiente, la vida de los organismos cesa. Fenómenos análogos a estos presenta la materia inerte, entre los que se estudian en la catalisis química; los catalizadores, modi-

fican la velocidad de las reacciones químicas; algunos, los negativos, disminuyéndola y esta acción es perfectamente semejante a la de los antisépticos sobre la materia viva.

Tóxicos de la materia inerte.

El platino coloidal es un catalizador positivo de la reacción por la cual el agua oxigenada, se descompone en agua y oxígeno, actuando así, aun a la concentración de 10^{-8} (1,7 gramos de platino, en 500.000 litros de agua)[55]; pero ciertos cuerpos en presencia, como el cloruro mercúrico o el ácido cianhídrico, paralizan la acción catalizante, obrando como venenos del catalizador.

En muchas reacciones químicas que son el fundamento de algunas industrias, encontramos casos análogos: por ejemplo, en la fabricación del ácido sulfúrico por procedimientos de contacto, la reacción por la cual el anhídrido sulfuroso se combina con el oxígeno para formar el anhídrido sulfúrico, se refrena y hasta puede llegar a paralizarse, por la presencia del anhídrido arsenioso, que obra en este caso como veneno del catalizador y por ello, cuando el anhídrido sulfuroso ha sido obtenido por tostación de las piritas, precisa purificarle escrupulosamente, antes de que reaccione con el oxígeno.

Acción y reacción.

En la materia inerte, se cumple siempre el principio de la acción y de la reacción, así como en los sistemas físicos o químicos en equilibrio, se cumple el principio de Le Chatelier. En analogía con estos hechos, aunque con intensidades variables, la materia viva responde con un cambio a toda excitación o acción que viene del exterior. En la materia viva, se dice que hay siempre una desproporción entre la acción y la reacción, pero en fenómenos mejor conocidos, por ejemplo, en la descomposición violenta de las materias explosivas, se manifiesta también aparentemente, esta desproporción entre la causa y el efecto.

Inercia.

La ley de la inercia, que para algunos es peculiar de la materia inerte, se aplica a los seres vivos cuya aparente espontaneidad no es más que la forma de réplica a un estimulante. Cl. Bernard definía la irritabilidad, como propiedad del protoplasma, de ser puesto en actividad y de reaccionar, bajo la influencia de excitantes exteriores.

Adaptación.

En los organismos vivos, se observa una relación entre su conformación orgánica y el medio o ambiente en que viven: co-

mo consecuencia de la influencia recíproca entre los agentes exteriores al organismo y la materia viva propiamente dicha, se produce el mecanismo de la evolución. Lamark dice[56] que la estructura de los organismos, está en armonía con las condiciones en que viven (adaptación).

Es muy probable que las variaciones de forma de los organismos, sea en el fondo de origen químico y efecto de la modificación química de los componentes de la materia viva: a este fin, tienen mucho interés las delicadas investigaciones de Armand Gautier[57] sobre las variedades de la especie *Vitis vinifera*: las modificaciones que producen la variación de razas, residen en las de las substancias constitutivas del protoplasma, de donde se deduce que ha de ser la Química, la que abordará experimentalmente el estudio de todos estos fenómenos vitales, que muchos colocan fuera del alcance de la investigación físico-química.

Los hechos de adaptación, son explicados por una realización previa de estructuras, que se encuentran en armonía con el medio; esta idea desarrollada por Cuenot[58], es aceptada por muchos biólogos. El determinar las leyes generales que expresan la armonía que une el organismo vivo a su medio es el gran problema biológico.

Por último, para terminar de exponer fenómenos característicos de la vida, quedan por citar la vejez y la muerte.

Vejez y muerte.

La vejez, según trataremos más adelante al estudiar la micela dispersa en los sistemas coloidales, puede considerarse como consecuencia de una variación en la actividad bioquímica de estos sistemas, que tiene por causa variaciones en la relación de superficie y masa de aquellas unidades físicas (las micelas), y la muerte, último acto de la vida (Schäfer) puede considerarse, según nuestras investigaciones sobre el movimiento browniano, y sobre el estudio ultramicroscópico de la célula viva que más adelante citaremos, como un fenómeno físico-químico, reducido al paso de un hidrosol a hidrogel, o en otros términos, a un fenómeno de coagulación completa.

Entre los fenómenos vitales estimados como característicos de la vida y los que la materia inerte presenta, no aparece solución de continuidad; en los sistemas coloidales se encuentran

multitud de fenómenos que pueden considerarse como intermediarios entre unos y otros, levantando así el velo que cubre todos esos fenómenos que muchos consideran cómodamente como misteriosos, aunque estudios son estos que muchas veces se reciben con una inconcebible e implacable hostilidad.

Por nuestra parte, dejando fuera de las ciencias naturales, el misterio del pensamiento, el de la consciencia, y todos los actos propios del alma humana que Dios crea y a Dios vuelve, no admitimos que estén fuera del estudio de las Ciencias Naturales, todos los otros fenómenos que son consecuencia de la vida de la materia, o sea todos los fenómenos vitales en los cuales la materia sin cesar se transforma. Considerada en estos fenómenos, la vida es un fenómeno físico-químico, muy complejo por los variados componentes químicos de la materia viva, y muy difícil de estudiar porque es un conjunto de fenómenos que se realizan en condiciones muy próximas a las de equilibrio de estos sistemas, aunque siempre tienen lugar en estado de desequilibrio constante, pues el equilibrio, es incompatible en los fenómenos vitales.

La vida de la materia es un fenómeno físico-químico.

Visto el conjunto de caracteres que esquemáticamente acabamos de relatar, resulta que no puede lógicamente admitirse una interrupción o un salto en la serie de los fenómenos naturales. Si generalizando mucho el concepto de vida, se admite que vive todo aquello que evoluciona entre un principio y un fin, conservando en el transcurso de esta evolución una cierta individualidad y una forma, la vida tiene realidad, en un concepto mucho más amplio qne el que de ordinario se considera.

CONSERVACIÓN Y DEGRADACIÓN DE LA ENERGÍA, EN EL TRANSCURSO DE LAS REACCIONES VITALES

La materia y la energía, creadas en principio por el Autor de la Naturaleza, se rigen en sus transformaciones por leyes generales, que la vida no en la realidad, pero sí aparentemente trastorna. La ciencia contemporánea, ha puesto en claro el encadenamiento maravilloso de todos los fenómenos, dejando entrever el origen único de la materia y de la energía, así como una génesis racional de todo lo creado.

Las leyes naturales son universales, no son ni físicas, ni químicas, ni biológicas, y se cumplen en la materia mientras se realizan los fenómenos. Una fuerza (Cl. Bernard), no es más que otra fuerza transformada, como una materia procede de la transformación de otra. Meyer en 1842, asemejó los animales a las máquinas térmicas, y unos años después el Profesor de Breslau, Heindenhain afirmaba que bajo el concepto de la transformación termodinámica, el animal, es el motor más perfecto. El químico Dumas, comparando la *máquina viviente* con los motores de vapor, afirmaba que la identidad de principios referentes a sus respectivas fuerzas, se manifiesta clara y evidente.

Conservación de la energía.

El principio de la conservación de energía, que se cumple en el transcurso de las reacciones químicas, se cumple también en las manifestaciones vitales. Si fuese posible hacer recorrer a un organismo vivo un ciclo completo, es decir, hacerle realizar una serie de actos físico-químicos, terminados los cuales se encontrara exactamente en su estado inicial y se midiera durante el transcurso de este ciclo las variaciones de energía, se deduciría que las cantidades de energía absorbidas y las emitidas, no se presentan en las mismas formas pero son equivalentes.

No es posible hacer recorrer a un organismo vivo un ciclo completo para volver exactamente a su estado inicial, pero a pesar de esta dificultad, ha sido posible resolver experimentalmente el problema que se plantea en el caso hipotético citado.

Experiencias de Atwater.

Atwater operó, encerrando sujetos en cámaras calorimétricas, y así como es imposible hacer pasar periódicamente a un ser, por un estado rigurosamente semejante al estado inicial, es posible realizar series de ciclos imperfectamente completos y compensar los errores. Determinando en el transcurso de largos períodos, las diferencias entre la cantidad de calor Q de los alimentos y de las excreciones y las cantidades de calor Q' absorbidas por el calorímetro, encuentra para el espacio de tiempo 24 horas, entre otros datos igualmente concordantes, los siguientes:

Valores de Q	2304 cal[s]	2118 cal[s]	2288 cal[s]
Valores de Q'	2279 cal[s]	2136 cal[s]	2278 cal[s]

El aparato de trabajo utilizado por el Prof. Atwater, gracias

a la esplendidez del Departamento de Agricultura de Washington, es una cámara, en la que el sujeto de la experiencia, se acomoda bien para vivir unos días encerrado. Este aparato, reune las condiciones de ser adiabático e isotérmico, además lleva los medios precisos para recoger y valorar el vapor de agua exhalado; para medir las cantidades de oxígeno y de gas carbónico que consume y produce y un medio para transformar en calor por el fenómeno llamado de las corrientes de Foulcault, el trabajo mecánico.

El conjunto de las primeras experiencias que duraron 43 días, dió para Q el valor 469.898 calorías y para Q' 470.470 cal. números suficientemente concordantes para afirmar, que el principio de la transformación de la energía se cumple en los fenómenos vitales, como en los fenómenos químicos o físicos de donde se deduce, que mediante el proceso vital, la energía recibida por el ser, es íntegramente restituída (Rubner).

Trabajo mental. Todavía va más lejos Atwater en sus conclusiones, pues teniendo en cuenta la actividad intelectual del individuo, afirma que en todas las formas de la actividad del organismo, la cerebral inclusive, no hay más radiaciones emitidas ni se desenvuelven otras energías, que las comprendidas en las denominaciones calor y trabajo. El Profesor Lehemann, de la Universidad de Copenhague, realizó investigaciones sobre el metabolismo durante el trabajo mental[59], deduciendo que un trabajo mental de naturaleza y magnitud dadas, produce en un mismo sujeto un aumento constante en la cantidad de gas carbónico expirado y por consiguiente corresponde, lo mismo que un trabajo físico, a una cantidad de energía constante. Cuanto mayor sea la dificultad del trabajo mental, mayor es la producción de gas carbónico; resultando así, que en el sistema nervioso, como en cualquier otro órgano, la actividad es un trabajo producido a expensas de la energía química disponible, que activa el metabolismo del órgano que funciona.

Experiencias de Chauveau. Por otra parte, las experiencias de Chauveau sobre el trabajo muscular demuestran, aunque por métodos distintos, conclusiones análogas y determinan numéricamente que el calor producido por las reacciones de la materia viva, tienen el mismo equivalente energético, que el calor producido por la materia inerte.

Los trabajos de Chauveau, han sido el origen de una escuela experimental, en la que sobresalen los trabajos de Morat, Weiss, Rubner, Lamblig, Dasta y otros, de los que se deduce, que el mantenimiento de la vida, no consume ninguna energía que le sea propia: toda la que pone en acción, la toma bajo forma de energía química potencial. El *primum novens* de la actividad vital, es la energía química acumulada en los principios inmediatos de los organismos.

Transformación de la energía química en mecánica.

Todos los fenómenos vitales como los físicos o los químicos, son formas de movimiento (Mayer) susceptibles de transformarse unas en otras, deduciéndose como concepto de energía, la capacidad que tienen los cuerpos para producir trabajo mecánico. La energía en forma mecánica que en la materia viva se manifiesta procede de la transformación de la energía química; pero asemejado el animal a una máquina de vapor (Dumas), cabe preguntar si como en estos transformadores térmicos, se pasa en los organismos de la energía química a la mecánica, sirviendo de puente o forma intermediaria, la energía calorífica; el estudio de un organismo considerado como máquina térmica, podrá darnos alguna idea sobre este asunto.

Sea el organismo humano: por aplicación de métodos calorimétricos, Atwater, Benedict, Capenter y otros, han determinado el *rendimiento del motor* humano, o sea la cantidad de energía exteriorizada en forma de trabajo mecánico, con relación a la cantidad de energía desprendida en las reacciones químicas que determina el metabolismo de la alimentación: este rendimiento es como mínimo 0,20, es decir, que el 20 por 100 de la energía desprendida puede ser transformada. Conocido el rendimiento de la máquina térmica, fácil es aplicando el teorema de Carnot,

$$R = \frac{T - T'}{T}$$

calcular la diferencia de las temperaturas correspondientes a este rendimiento, sabiendo que la temperatura normal del músculo, 37°,5, es una de las dos temperaturas en presencia; sea la de salida del transformador. Se deduce que la de entrada deberá ser 115° para tener 0,20 de rendimiento, temperatura esta, que por ser incompatible con la integridad de los tegidos, demuestra

que el transformador animal (el músculo) no es una máquina térmica.

Interviene la tensión superficial.

M. d' Arsonval supone[60], que la transformación de la energía química en trabajo mecánico, se hace por intermedio de una variación de tensión superficial, idea que ha sido después desarrollada por Imbert[61]. Las investigaciones de Lippman[62], sobre los fenómenos electro capilares, demuestran que toda deformación de una superficie tiene por efecto la producción de una corriente eléctrica e inversamente, una corriente eléctrica, produce una deformación de superficie, como demuestra la experiencia de la ameba mercúrica de Ostwald (1).

El trabajo mecánico de los músculos, no significa una excepción del segundo principio de la termodinámica, si se abandona por imposible la idea de una transformación previa de la energía química en calorífica y se admite que la energía química se utiliza después de su transformación en energía eléctrica, modalidades diferentes de una misma forma superior de energía.

Degradación de la energía.

Actualmente, se distinguen cualidades de energía, según la proporción de energía utilizable que contienen y se consideran como formas superiores de energía, la mecánica y elástica, la eléctrica y la energía química libre y como formas inferiores, la luminosa y la calorífica, representando el principio de Carnot, la tendencia natural de la energía a pasar de las formas superiores a las inferiores, es decir, a degradarse.

Sin detallar más estos hermosos trabajos, basta a nuestro objeto dejar sentado, que el principio de la conservación de la energía, se aplica a los fenómenos que se realizan entre la materia inerte, como se aplica a los fenómenos vitales, sin que haya hecho alguno, experimentalmente confirmado, que autorice a decir que un principio vital propio de los seres vivos, absorbe para sostenerse, la menor cantidad de energía, y apareciendo muy artificial el sostener que en el ciclo de la evolución energé-

(1) Consiste esta experiencia, en colocar en una cápsula o vaso de fondo plano, una gota de mercurio recubierta por una capa de ácido sulfúrico o de ácido nítrico diluído y añadir un pequeño cristal de $Cr_2 O_7 K_2$: si se toca con un alambre de hierro la gota de mercurio, ésta se contrae o emite pseudópodos realizándose análogo fenómeno espontáneamente, cuando le alcanzan algunas ondas de ácido crómico, producido por la acción del ácido nítrico o sulfúrico sobre el cristal de dicromato.

tica de los seres vivos, hay una fase misteriosa de la energía inaccesible a la observación del hombre.

La calorificación, es la propiedad característica (Planck) propia del *sistema viviente* termodinámicamente considerado y bajo el punto de vista biológico, la termogénesis es uno de los atributos esenciales de la materia viva: estos fenómenos están subordinados al principio Carnot-Clausius[63] y de la generalización del principio de Carnot, hecha por Clausius, a todo ciclo cerrado reversible, es fácil demostrar que «en todo sistema material cuya transformación es isotérmica y en ciclo cerrado, necesariamente se desprende calor», lo cual equivale a decir que en el animal viviente, el metabolismo energético, ha de tener lugar necesariamente con desprendimiento de calor.

El término de las transformaciones energéticas de los animales es la energía térmica, que antes acumularon los vegetales, devolviendo los animales al medio cósmico, la energía que los vegetales captan.

CONCEPTO DE LA MATERIA VIVA

Citoplasma y núcleo.

Es un hecho comprobado por las experiencias de merotomía celular, que separados el citoplasma y el núcleo, componentes de la célula, siguen viviendo, aun cuando su vida se extingue pronto: para que la evolución vital siga su curso, es preciso que esos dos componentes permanezcan asociados, pero para regenerar el proceso vital, basta que subsistan partículas asociadas del uno y del otro y así el organismo celular se regenera: estas experiencias demuestran, que la célula, más que asociación de órganos estructurados, es asociación química de substancias recíprocamente activas y partiendo de esta consecuencia, el análisis científico, va más allá de la célula y coloca la generación del proceso metabólico en la materia viva, formada por la asociación de los componentes citoplásmicos y los nucleares.

La complejidad del protoplasma, no es suficiente en sí, para el sostenimiento de la vida, precisa la existencia de la substancia nuclear, pero una explicación fundamental de los fenómenos vitales, no la tendremos, hasta después de conocer las transforma-

ciones químicas que tienen lugar en ese complejo que constituye la materia viva.

La materia viva es un líquido más o menos viscoso.

La materia viva, representando lo extrictamente indispensable para producir las reacciones bioquímicas, es un líquido viscoso, en el que todo proceso vital tiene su asiento. En el concepto químico físico, forma un sistema disperso muy complejo, que contiene variados grados de dispersión, y en el concepto químico, es un sistema en constante estado dinámico de varios componentes, cuya estructura o constitución química, es muy distinta. Esta materia en estado de constante transformación, toma del medio en que vive porciones de materia, las fija, las asimila, las hace sufrir una cierta evolución, un ciclo, durante el cual, constituyen su materia misma, y después por desasimilación vuelven al medio ambiente, con estructura química distinta a la que tenían cuando comenzó el ciclo.

La materia viva presenta en los diversos organismos y aun en uno mismo, gran variedad de composición, pero como bajo el punto de vista químico estas múltiples variedades tienen analogías de composición, puede hablarse de la materia viva de modo general, pues las mayores diferencias de orden químico, residen en los productos que la materia viva elabora y que retiene o elimina según la estructura peculiar de cada organismo, separándolos de la circulación vital. Se establece pues, para la materia viva, una cierta unidad química cuyas variaciones, más que específicas son estructurales.

De entre los constituyentes químico-físicos de la materia viva, el más importante es sin duda alguna el sistema coloidal, de cuya constitución forman parte, las unidades físicas denominadas micelas que se transforman en los procesos vitales pero persistiendo en ellas un conjunto de caracteres que las definen y por ellos, se puede establecer algunas relaciones de semejanza entre la compleja materia viva, y las relativamente sencillas dispersiones coloidales de tal modo, que las funciones elementales de la vida, pueden reconocerse en la micela [65].

En el estudio de la constitución de los organismos, los biólogos se han detenido ante la célula que consideran como unidad, pues afirman, que para que los fenómenos vitales se produzcan precisa por lo menos una célula: este es realmente el término de

Probable existencia de unidades vivientes más sencillas que la célula.

las exploraciones microscópicas, pero ocurrirá en la célula unidad en Biología, lo que ha ocurrido con el átomo unidad en Química? Puesto que el microscopio, ha revelado en el corpúsculo viviente partes inertes, ¿no cabría considerar la célula, como un terreno de cultivo explotado en comunidad solidaria, por habitantes microscópicos o ultramicroscópicos?[66] y admitido esto, por qué no pensar que semejantes seres pudieran vegetar libremente en las aguas y en toda suerte de materias orgánicas disueltas?

Nuestro biólogo insigne, el Dr. Ramón y Cajal, al referirse a lo que por brevedad llama teoría citocolonial, confiesa que «después de un periodo de repugnancia, en parte motivada por las exageraciones y extravíos de algunos citocolonistas, la hipótesis (existencia de unidades vivientes más sencillas que la célula) presentase actualmente a mi espíritu, con caracteres de creciente verosimilitud y simpatía; es más, hemos descubierto algunos hechos de metamórfosis intracelular, difícilmente explicables si no se acepta que el armazón protoplásmico es algo vivo y relativamente autónomo, a su vez integrado por unidades vivientes invisibles».

La materia viva tiene marcada tendencia a constituir células que continuan siendo unidades morfológicas y aun estados de adaptación que ofrecen condiciones favorables para el intercambio de substancias. Pero la materia viva es más importante en sí misma que por su tendencia a formar células y por ello la investigación sobre la estructura y composición química *de la materia viva, no de las células*, es el problema capital de la biología[54].

La moderna Bioquímica con sus exploraciones ultramicroscópicas, debe llevar la disección del organismo celular, hasta resolver esa irresoluble nebulosa en micelas que presentan los fenómenos más elementales de la vida, y como el tránsito del estado coloide al cristalino, es problema experimentalmente resuelto, se vislumbra la continuidad en los diversos aspectos de la materia, partiendo de la unidad en la creación.

El investigador científico, usando de los más poderosos medios de acción de que actualmente dispone, ha sitiado esa fortaleza considerada por muchos como inexpugnable, el maravilloso

Alcazar de la vida: pasado algún tiempo y perfeccionados los medios de investigación, esa fortaleza quizá acabará por rendirse y estamos persuadidos de que en la actualidad, hay una brecha, producida por el estudio de los coloides, por la cual se puede penetrar y desentrañar alguno de sus secretos, siquiera sean estos por hoy los de orden más elemental; pero principio quieren las cosas...

Decía Aristóteles, que lo maravilloso es el principio de la Filosofía, y así también puede decirse que es el principio de la Biología, aunque afirmaba después, que lo maravilloso tiene su origen en nuestra propia ignorancia.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. Guye, *Journal de chimie physique*, t. 2.º, pág. 549, año 1904; t. 3.º, pág. 188, año 1905.

2. Drumeaux, *La theorie corpusculaire de l'electricité*, Paris, 1911.

3. Lord Kelvin, *Philog. Mag.*, t. 3.º, pág. 257, año 1902.
J. Thomson, *Phil. Mag.*, t. 7.º, pág. 237, año 1904.

4. Eug. Guye, *Archives des Sciences phs. et natur.*, 15 Enero 1916.

5. Prout, *Du rapport entre les pesanteurs specifiques des corps dans leur état gazeux et des poids de leurs atomes*, año 1815.

6. Norman Lockyer, *L'evolution inorganique*. Paris, 1905.

7. L. Bermejo, *Algunas consideraciones acerca de la materia elemental*. Discurso inaugural, pág. 82. Universidad de Valencia, curso 1913-1914.

8. Santo Tomás de Aquino, *Summa theologica*. Parts prima, Ques 18, art. 1.º.

9. Santo Tomás de Aquino, *Tratado de veritate*. Ques 4, art. 8.

10. F. Le Dantec, Conferencia sobre *Las dos tendencias biológicas* ante la Societé des amis de l'Université. Paris 28 Enero 1909.

11. P. Pujiula, Conferencias sobre *La Vida y su evolución filogenética*. Valencia, 1915, pág. 124; pág. 151.

12. H. Driesch, *Philosophie des organichen*.

13. P. Donau, *Revue des Questions Scientifiques*, t. XVIII. Julio 1910.

14. P. B. Feyjóo, *Teatro crítico*, t. 3.º. Discurso 9, núm. 15. Madrid, 1768.

15. Loeb, Discurso en el primer Congreso internacional de Monistas. Hamburgo, 10 Septiembre 1910.

16. D'Arcy W. Thomson, *Les grands problemes de la Biologie*.

Discurso Presidencial ante la Sección de Zoología de la A. Británica para el Progreso de las Ciencias. 31 Agosto 1911.

17. A. Prenant, *Tratado de Histología*, t. I, pág. 12, 1904.

18. Santo Tomás de Aquino, *Quæstions disputate*. Tomo I de Potencia. Quæst. III, art. I, pág. 124. Friburgi Helv., 1883.

19. A. Compte, *Curso de Filosofía positiva*, vol. 2.º, 1838.

20. Moriz Benedikt, *Biomechanik und Biogenesis*, 2.º edición. Jena, 1912.

21. A. J. Ferreyra, *Una ética química*, Revista de Filosofía, Cultura, Ciencias y educación. Buenos Aires, Septiembre 1916.

22. J. Loeb, *La conception mecanique de la vie*. Trad., pág. 141. Paris, 1914.

23. Haeckel, *Histoire de la creation des etres organisés d'apres les lois naturelles*, trad., pág. 304. París, 1877, 2.º edic.

24. Lange, *Histoire du materialisme*, trad., t. II, parte II, cap. 1.º.

25. Tiedemann, *Traite de Physiologie*, t. I, pág. 132. París, 1881.

26. Balfour Stewart et Tait, *L'univers invisible. Etud. physiques sur l'etat futur*, pág. 305. Paris, 1883.

27. Fr. Benito Feyjóo, *Teatro critico universal*, t. VII. Discurso I. *Lo máximo en lo mínimo*, n.º 35. Madrid, 1768.

28. H. Charton Bastian, *L' origine de la vie*, 2.º edic., pág. 104.

29. H. Ch. Bastian, *Nature*, 1870.

30. Charpentier, *Les microbes*.

31. H. Ch. Bastian, *Evolution de la vie*, Paris, 1908.

32. Maumus, *L' origene de la vie, etc.*, Revue Scientifique. Paris, Agosto 1916.

33. A. y A. Mary, *Organismes primordiaux, La sintesis de la organización, Principios de Plasmogenia*, Gaceta Médica Catalana, números 913, 914, 915, 916, 917, 918, año 1915, trad. de V. Delfino.

34. Víctor Delfino, *Inducciones plasmogenistas*, Semana Médica, número 18. Buenos Aires, 1916.

35. Herrera, *Nociones de Biología*.

36. Stephane Leduc, *La Biologie sinthetique*. París, 1912.

37. *A propósito de una conferencia*, El Siglo Médico, Madrid 29 de Marzo de 1885.

38. El Siglo Médico, 12 Abril, 26 Julio, 9 y 16 de Agosto de 1885.

39. A. y A. Mary, *La Sintesis de la vida*, Gaceta Médica Catalana, t. XLVIII, n.º 925, año 1916.

40. A. Giard, *Bull. scientific de la France et de la Belgique*, t. XXVI pág. 451, 1898.

41. F. Le Dantec, *Elements de Philosophie biologique*, pág. 4. Paris, 1911.

42. Dastre, *La vie et la mort*, Bibliothéque de Philosophie scientifique, París.

43. Claudio Bernard, *Rapport sur les progrès et la marche de la Physiologie generale en France*, 1867.

44. Max Verwornn, *Physiologie generale*, trad. de la 2.ª edic. allem., p. VII y p. 650. París, 1900.

45. E. Gley, *Les sciencies biologiques et la biologie generale*. Lección inaugural del curso de Biología general College de France. 8 Diciembre 1908.

46. Stephane Leduc, *Teorie Physio-chimique de la vie et generations spontanées*, pág. 143. París, 1910.

47. Haberlandt, *Physiologische Pflanzenanatomie*, 1904.

48. José R. Carracido, *Los lipoides celulares*. Asociación Española para el Progreso de las Ciencias. Congreso de Valladolid, 1915.

49. Buffon, *Historia Natural*, t. 3.º, cap. II. Edición de la Biblioteca popular económica. Madrid.

50. Stokard, *The development of artificially produced Cyclapean fish, The magnesium Embryo*, Journal Expt. Zoology., vol. VI, páginas 285-337, 1908.

51. A. D. Mead, *Biological Lectures*, at Woods Hole, Boston. 1898.

52. Loeb, *La conception mecanique de la vie*, trad. París, 1914, pág. 141.

53. A. P. Matthews, *Some ways of causing mitosis in unfertilized Arbacia eggs Amer.*, Journ. Physiol., 1900, VI, 343-347.

54. Charles S. Minot, *Problemas modernos de Biología*. Conferencias en la Universidad de Jena. Trad. Barcelona, 1914, pág. 134 y pág. 35.

55. Fred. Swarts, *Cours de Chimie inorganique*, pág. 691. París, 1908.

56. Lamarck, *Philosophie zoologique*, 1809.

57. Ar. Gautier, *Revue generale des sciences*, 15 Enero 1892, página 28.

58. Caullery *L' etat present du probleme de l'evolution*. Lección de apertura de curso en la Universidad Harvard, 24 Febrero 1916.

59. Lehemann, *Le metabolisme pendant le travail mental*, Revue scientifique. París 16 Agosto 1913.

60. D'Arsonval, *Arch. physiol. norm. et pathol.*, 1880.

61. Imbert, *Traité de physique biologique*, t. I, pág. 441. París, 1901.

62. Lippman, *Journ. de physique*, t. 3.º, pág. 41, 1874, y serie II, t. 2.º, pág. 116, 1883.

63. E. Nicolau [illegible] Discurso inaugural, Universidad de Barcelona, curso 1914-1915.

64. José R. Carracido, *Tratado de Química biológica*, pág. 362. Madrid, 1903.

65. José R. Carracido, *El estado coloide en la materia viva*. Lección inaugural del curso de Química biológica, 1912-13. El Monitor de la Farmacia. Madrid, 5 Enero 1913.

66. S. Ramón y Cajal, *Asociación Española para el Progreso de las Ciencias*. Congreso de Madrid. Discurso inaugural, t. I, pág. 23, 1913.

CAPÍTULO II

ESTUDIO DE LOS SISTEMAS DISPERSOS

GENERALIDADES

Conceptuada la materia viva como un líquido más o menos viscoso formado por el agua, en la que conjuntamente se encuentran disueltos algunos cuerpos, desmenuzados otros, hasta el tamaño de las partículas que caracterizan el estado coloidal de la materia y todavía algunos, en estado de más gruesos gránulos, formando suspensiones o emulsiones, visibles con ayuda del microscopio ordinario, interesa mucho estudiar las particulares propiedades que presenta la materia, en el sistema formado por un líquido (medio de dispersión) en el que se desmenuza (se dispersa) otro cuerpo (cuerpo disperso) dividiéndose en partículas más o menos pequeñas (grado de dispersión). Estas propiedades que nos interesa conocer y de las que en este capítulo haremos referencia, son las que dependen, no de la naturaleza química de los cuerpos que formen el sistema, sino las que se producen como consecuencia exclusivamente del mayor o menor grado de dispersión o desmenuzamiento del cuerpo disperso.

El estudio de las disoluciones y el de los fenómenos que se realizan cuando dos disoluciones diferentes se ponen en contacto y se separan o no por membranas permeables o semipermeables, es el preliminar obligado, para el estudio de los fenómenos biológicos. El contacto de dos disoluciones diferentes, es el fenómeno más elemental de la vida, y a este fenómeno físico inicial suceden siguiendo las leyes de la Física y de la Química, toda la serie de fenómenos que constituyen la vida (Leduc). [1]

La materia tiene acumulada cantidades enormes de energía

Teoría cinético molecular.

que parcialmente, viene a estar representada por las velocidades con que las moléculas se mueven, constituyendo así el estado de constante agitación en que las supone la teoría cinético-atómico-molecular. Las ideas actuales sobre la constitución de la materia, admiten sin reserva alguna que la materia es discontinua, estando formada por la reunión de partículas física y mecánicamente indivisibles (moléculas), las cuales, sin estar en contacto, se encuentran distanciadas, formándose así los espacios intermoleculares, cuya magnitud será mucho mayor que la de las moléculas. Pero las moléculas no están en reposo; las supone la teoría cinética en estado de constante movimiento y esta suposición, que da una representación sencilla de la energía calorífica de la materia, nos explica importantes y fundamentales leyes y se admite hoy sin reserva alguna. Se ha deducido, por ejemplo, que para el caso del nitrógeno, en condiciones de gas normal, su molécula posee una velocidad media de 492 metros por segundo.

En una masa gaseosa, supuestas las moléculas perfectamente elásticas y en movimiento, ejercerán al chocar unas con otras y contra las paredes de las vasijas que las contengan, una acción, de la que resulta la presión en cada punto de su masa y la presión sobre las paredes de la vasija, dependiendo el valor de ésta, de la masa y de la velocidad de cada molécula, del número de moléculas y del número de choques que cada molécula realice en la unidad de tiempo. Todo esto supuesto, se calcula con ayuda de consideraciones puramente mecánicas, el valor de la presión que un gas ejercerá sobre las paredes de la vasija que lo contiene y en la expresión algébrica que se deduce como representación de esta presión, se encuentran condensadas las sencillas leyes que definen el estado gaseoso de la materia y como consecuencia de estas ideas, conocemos una explicación racional de las anomalías que presentan las leyes de Mariotte y de Gay Lussac, por las cuales, a estas leyes se las considera como leyes límites.

Las ideas desarrolladas por la teoría cinética de una parte, y por otra la observación, han dado a conocer interesantes datos referentes a partículas materiales cuya existencia no es dudosa aunque no puedan ser visibles para nosotros; así, se conoce

que el diámetro de las moléculas es del orden 10^{-8} centímetros; que un centímetro cúbico de gas normal contiene aproximadamente, 27×10^{18} de estas unidades físicas, etc., etc. Y las moléculas invisibles que componen una masa gaseosa, y los soles que recorren los espacios celestes, obedecen a las mismas leyes de la dinámica y de la probabilidad[2]; las estrellas son las moléculas del universo.

Constitución de la materia en estado líquido.

De la teoría de Van der Vaals y del estudio de los fenómenos críticos se deduce, que el estado molecular de los líquidos tiene algunos puntos de relación con el de los gases. Estando mucho más próximas entre sí las moleculas de los líquidos que las de los gases, sus choques mutuos se verificarán con gran frecuencia y por lo tanto, se encontrarán a una gran presión parcial equilibrada con la atracción mútua de las moléculas: por esta presion parcial, tenderán las moleculas a separarse unas de otras y de ella será consecuencia la tensión de vapor del líquido, y el fenómeno de evaporación.

Nos interesa muy particularmente, llegar a este concepto, de que las moléculas de los líquidos unitarios, se encuentran en estado de constante movimiento con una velocidad, que viene representada para un líquido dado por su temperatura: la actividad de este movimiento, nos dará idea de la energía cinética que el sistema líquido posee. Y así, cuando un cuerpo, sólido por ejemplo, se pone en contacto con un líquido y de tal modo se escogen estos cuerpos que no exista entre ellos acción química manifiesta, si suponemos que el sólido es soluble en el líquido considerado (sean el sólido sacarosa, el líquido agua) las moléculas del líquido, por su movimiento y el chocar incesante entra la superficie del sólido (un verdadero bombardeo molecular) arrancará de esta un cierto número de pequeñas particulas, que libres por esta acción de las atracciones mútuas a que cuando formaban el sistema sólido estaban sujetas, se proyectan en el líquido, recorriendo los espacios intermoleculares del disolvente, según deduce la teoría cinética aplicada a las disoluciones; llega un momento en el que se obtiene un equilibrio dinámico en el que intervienen también la viscosidad del líquido supuesto, y esto ocurre, cuando la concentración del sistema obtenido (disolución), es igual en todos los puntos de su masa.

Acción de un líquido (disolvente) sobre un sólido (soluble).

El fenómeno descrito, puede observarse directamente, si se emplea como cuerpo a disolver el permanganato potásico, por tener este cuerpo, o mejor dicho su ión MnO_4', la propiedad de colorear sus disoluciones y como disolvente el agua: colocando en el fondo de una probeta, unos cristales de la nombrada sal y añadiendo el agua lentamente y con cuidado dejándola caer por las paredes de la vasija, se observará una coloración heterogenea en el líquido, con transporte de masas de distinta concentración (más densas) de abajo arriba, formando estrías que se difuminan en la disolución (difusión) hasta que la masa tiene igual densidad, o sea igual concentración en todos sus puntos y el movimiento de transporte aparente, cesa. Mucho mejor puede seguirse la apariencia de este fenómeno, operando la disolución en una cubeta acoplada a una linterna de proyección, y así, por la mayor amplificación y mejor iluminación, se observa con más detalle la marcha del fenómeno.

Por el hecho de la disolución, queda en definitiva disgregado el cuerpo disuelto, pero el grado de disgregación obtenido, varía con la naturaleza del cuerpo disuelto y con la del disolvente. Si el cuerpo disuelto posee la función química, ácido, base o sal y el disolvente es el agua, la disolución será un electrolito, alcanzando la disgregación del cuerpo disuelto, un límite mayor que el de las moléculas unitarias pues que un cierto número de estas, variable con la temperatura, concentración, etc., se encuentran subdividas en dos fracciones (iones) o en mas de dos, según la valencia respectiva (Sv. Arrhenius). A estas disoluciones susceptibles de gran desmenuzamiento en la materia disuelta, se las denomina *disoluciones iónicas.*

Otras veces, la disgregación del cuerpo disuelto, alcanza solamente hasta las moléculas unitarias (caso de la disolución de sacarosa en agua): esta forma de disolución la presenta la mayoría de las disoluciones que no son electrolitos y se les llama *disoluciones moleculares.*

En otros casos, las moléculas de los cuerpos disueltos se polimerizan, y las partículas dispersas en el disolvente, tienen una magnitud equivalente a la suma de cierto número de moléculas del cuerpo disuelto, por lo cual el número de partículas dispersas en una disolución de este tipo, será menor que el número de

moléculas disueltas. Ejemplos de esta forma de disolución son las disoluciones de los ácidos orgánicos en el benceno.

El diferente grado de desmenuzamiento en que se encuentra disperso un cuerpo en su disolución, depende como es natural, de su naturaleza, pero también varía en la naturaleza del disolvente; por ejemplo, el ácido acético, disuelto en benceno, se desmenuza en partículas cuya constitución es:

$$(CH_3 - CO\,.\,OH)_2. \quad \text{Peso molecular} = 120$$

Si se disuelve en el éter ordinario, el desmenuzamiento llega hasta partículas que son moléculas,

$$CH_3 - CO\,OH\,. \quad \text{Peso molecular} = 60$$

y si el disolvente fuera el agua, se produciría una disolución iónica, en la cual algunas moléculas se encontrarían disgregadas

$$CH_3 - CO\,OH \rightleftharpoons CH_3 - CO\,.\,O' + H^{\cdot}$$

en dos fracciones (iones), la una $H^{\cdot}$ con carga eléctrica positiva, la otra $CH_3 - CO\,.\,O'$, con carga negativa.

Otro ejemplo de variaciones del grado de dispersión, en diferentes disolventes, lo encontramos en el yodo, que disuelto en alcohol, produce disoluciones moleculares, y disuelto en disoluciones acuosas de ioduro de potasio, se dispersa en partículas que poseen mayor grado de condensación en yodo, formando el llamado triyodoion (I_3) fácilmente disociables en presencia del hiposulfito de sodio.

Este variable grado de dispersión, por la acción de los disolventes, recuerda el variable grado de condensación molecular que muchos cuerpos, simples y compuestos, presentan a diferentes temperaturas; así por ejemplo, las unidades físicas del azufre a la temperatura ordinaria, se representan por la fórmula S_8; a 448° la determinación de su densidad, deduce la fórmula S_6; por este mismo método a 860° la molécula de azufre, es S_4 y a 2.000° y presión de 375 mm., el 45 por 100 de estas moléculas se disocian, produciendo moléculas de fórmula S.

Diversos modos de dispersión.

A las formas de disolución que hasta ahora hemos citado, se les llama *disoluciones verdaderas o solutoides* y en todos los casos considerados, el sistema formado, es una mezcla física, es

decir, que es física y químicamente homogéneo en todos los puntos de su masa. En el concepto físico-químico, se las considera como sistemas monofásicos.

Además de estos modos de dispersión que dan lugar a las disoluciones verdaderas, existen otros en los que, los líquidos (disolventes) realizan dispersiones de menor grado, o sea producen partículas de mayor tamaño, aunque no tan grande, que el propio peso de la partícula, venciendo la resistencia de la viscosidad del líquido, la separe del disolvente depositándose, sino lo suficientemente pequeña para que esto no ocurra y para que por tener dimensiones mucho menores que las precisas para que sea visible para nosotros, el sistema será aparentemente homogéneo, aunque en realidad constituirá un sistema heterogéneo en el que podrán considerarse, en el concepto físico-químico, dos fases: el líquido que obra como disolvente (medio de dispersión, una fase) y el cuerpo aparentemente disuelto (cuerpo disperso, otra fase) que se encontrará en estado de gran división y en contacto con una enorme superficie del disolvente. Es tan íntima la penetración recíproca de estas dos fases, que el conjunto aparece como un sistema homogéneo, aun cuando los actuales métodos de investigación, permiten demostrar claramente que estos sistemas son heterogéneos. La clásica reacción de Tyndall, diferencia las verdaderas disoluciones, de estas aparentes disoluciones y el ultramicroscopio ha puesto fuera de duda la no homogeneidad de estos sistemas en los que la materia dispersa se encuentra en *estado coloidal*. Al sistema en conjunto, se le denomina *pseudo disolución*, o impropiamente, *disolución coloidal*.

El tamaño de las partículas dispersas en un líquido, puede ser mayor que el que acabamos de considerar, formándose sistemas heterogéneos a simple vista, es decir, líquidos turbios porque el tamaño de la partícula, o está dentro de los límites de visibilidad de nuestro aparato de visión, o está próximo a este límite y las partículas dispersas, aisladas o formando pequeñas aglomeraciones, determinan la turbidez del sistema tanto más manifiesta, cuanto mayor sea el tamaño de la partícula o la concentración. A estos sistemas se les denomina *suspensiones* o *emulsiones*; en ellas, la viscosidad del medio, equilibra la acción

de la gravedad o sea el peso de la partícula y así queda ésta, sometida a las acciones dinámicas, que la energía cinética del medio de dispersión ejerce sobre ella.

La propiedad que tienen los disolventes de producir el desmenuzamiento de los cuerpos, varía de unos a otros líquidos y de aquí se deriva el diferente poder de disolución que para un mismo cuerpo, presentan diferentes disolventes. La propiedad *disolvente*, se reduce a la de dispersar el cuerpo a disolver, en partículas más o menos pequeñas, y la propiedad *soluble*, es dispersarse o desmenuzarse en mayor o menor grado, por la acción del disolvente, o mejor dicho, por la energía cinética de los disolventes.

Sistemática de Ostwald.

En la sistemática establecida por Ostwald[3] (Abril 1907), se estudian los sistemas dispersos tomando como idea fundamental, que un cuerpo cualquiera sólido o líquido, puede ser dividido en ciertas condiciones, en partículas pequeñísimas hasta el tamaño de la partícula molecular o de la iónica. El sistema estable formado por el disolvente conteniendo la materia dispersa, es un *sistema disperso* cuyas propiedades varían según sea el tamaño de la partícula dispersa o sea el grado de desmenuzamiento o *grado de dispersión* de la fase dispersa: la relación $D = \frac{S}{V}$ en la que S representa la superficie total de la fase dispersa y V su volumen, expresa el grado de dispersión de un sistema.

Grado de dispersión.

Todos los sistemas dispersos, los agrupa Ostwald en tres grandes tipos que establece, atendiendo al tamaño decreciente de las partículas dispersas, o lo que es lo mismo, el grado creciente de dispersión, son los siguientes:

Dispersiones. Sistemas en los que el tamaño de la partícula dispersa es mayor de 0,1μ (*): se subdividen en *suspensiones* o *emulsiones*, según que la materia dispersa sea respectivamente sólida o líquida.

Dispersoides o disoluciones coloidales. Sistemas en los cuales el desmenuzamiento de la fase dispersa, alcanza tamaños comprendidos entre 0,1μ y 0,001μ. En este caso, el cuerpo dis-

(*) μ representa una milésima de milímetro; una micra.

perso se encuentra a causa de su grado de desmenuzamiento en estado coloidal y el sistema obtenido se denomina *suspensoide o emulsoide* atendiendo al estado físico, sólido o líquido respectivamente, del cuerpo disperso antes de su dispersión.

Dispersidos o solutoides. Constituyen este grupo las disoluciones verdaderas, en las cuales alcanza su máximum, el grado de dispersión. El tamaño de la partícula dispersa es menor de 0,001μ.

LAS DISOLUCIONES VERDADERAS (SOLUTOIDES).

Considerada una disolución a temperatura determinada, es una mezcla homogénea en estado de equilibrio, de un líquido (disolvente) y un sólido, líquido o gas (cuerpo disuelto).

En la rápida exposición que vamos a hacer de las propiedades más fundamentales de las disoluciones, nos referiremos porque ello nos interesa más, a las disoluciones diluídas, es decir, a las que contienen uno de los componentes del sistema (el disolvente), en gran exceso, porque de esta especie, son las disoluciones que existen en los organismos vivos.

Cuando una disolución se realiza, el volumen resultante no es igual a la suma de los volúmenes del disolvente y del cuerpo disuelto, sino menor: este hecho es general. Tanto el disolvente como el cuerpo disuelto, sufren cambio en sus propiedades por el hecho de la disolución, observándose variaciones en la temperatura de solidificación, en la tensión de vapor, temperatura de ebullición, tensión superficial, calor específico, conductibilidad calorífica y eléctrica, etc., produciéndose también algunas variaciones provocadas por la acción del disolvente sobre el cuerpo disuelto que originan el estado de equilibrio que caracteriza la disolución.

Teoría de la ionización.

Los fenómenos de conductibilidad eléctrica y otros muchos que en las disoluciones se estudian, se interpretan tomando como fundamento la teoría de Svante Arrhenius[4] que se denomina de la *ionización.* Admite esta teoría, que cuando se disuelve un cuerpo capaz de producir disoluciones conductoras de corriente eléctrica, sus moléculas no se encuentran dispersas en la disolución en estado normal de molécula unitaria, sino que se des-

componen (se disocian) en dos fracciones simples (si se trata de compuestos binarios) o compuestas, cada una de las cuales, posee una carga eléctrica positiva o negativa. A estas fracciones moleculares, con su correspondiente carga eléctrica, se denominan *iones*. Así por ejemplo, una disolución de cloruro de sodio, contendrá los iones Cl^- Na^+ otra de sulfato neutro de sodio, los iones SO_4'', $Na^{\cdot}$ $Na^{\cdot}$. A los iones con carga eléctrica positiva se les denomina también cationes y a los de carga eléctrica negativa aniones, porque en la electrolisis, se orientan respectivamente hacia el catodo o hacia el anodo.

Concepto del ion.

El ión potasio, por ejemplo, es el átomo de potasio *con una carga eléctrica positiva*, no está como el potasio libre que conocemos, formado por moléculas de este elemento, ni debe extrañar por lo tanto, que no presente las propiedades que reconocemos en el potasio cuerpo simple, que descompone el agua a la temperatura ordinaria, mientras que el ión potasio disperso en el agua, no ejerce acción química alguna sobre las moléculas de su disolvente. Los iones poseyendo su carga eléctrica, idéntica para iones de la misma especie, tienen una cantidad de energía distinta de la que posee la misma materia no ionizada y esta diferencia origina, el que los átomos y los iones de una misma especie de materia, no tengan las mismas propiedades.

Los iones cloro, por ejemplo, tienen las mismas propiedades y la misma carga eléctrica, ya procedan de la ionización del cloruro de potasio ($Cl\ K$) o del cloruro de bario ($Cl_2\ Ba$), pero en el primer caso, por cada molécula que se ioniza, queda formado un ión cloro, mientras que en el segundo caso, por cada molécula de cloruro de bario ionizada, quedan formados dos iones cloro. Es debido esto, a que la carga que posee el ión bario como procedente de un átomo bivalente, es doble y de signo contrario a la que posee el ión cloro. Del mismo modo, si el cloro estuviera combinado con un elemento que funcionara como trivalente, la carga eléctrica del ión formado por este elemento, sería triple de la carga eléctrica del ión cloro, que por otra parte es cuantitativamente idéntica a la de todos los otros iones monovalentes simples o compuestos.

Se establece pues una relación importantísima entre la valencia de los iones y su carga eléctrica, y se deduce que la car-

ga eléctrica de un ión, será siempre un múltiplo exacto de una carga elemental invariable.

La teoría de la ionización de la que en líneas generales acabamos de dar idea, fué enunciada en su parte fundamental por Clausius[5] en 1857. Arrhenius, demostró la facilidad con que se aplica a las disoluciones acuosas y el éxito de su trabajo, es sobre todo el que hizo esta hipótesis cuantitativa, siendo en este aspecto en el que presenta su mayor mérito. Ostwald ha demostrado, que la ionización no es otra cosa que una reacción de equilibrio, que cumple la ley de la acción de las masas enunciada por Guldberg y Waage.

Clausius en 1857, formuló la hipótesis[6] de que la disociación de la molécula en los electrolitos, no era debida al paso de la corriente eléctrica, sino que se realizaba en el mismo momento de la disolución y que las fuerzas eléctricas no hacían en el fenómeno de la electrolisis, más que orientar las fracciones moleculares, hacia el anodo o hacia el catodo. Las ideas de Clausius se precisaron más por la determinación de velocidades de transporte, y en 1880, Helmoltz[7] expuso claramente que antes del paso de la corriente, existe en el electrolito la disociación electrolítica.

Carga eléctrica del ión.

Durante el fenómeno de la electrolisis, los iones transportan su carga eléctrica y se descargan en el electrodo correspondiente verificándose siempre, que *una misma cantidad de electricidad descompone siempre el mismo número de moléculas gramos* de un electrolito, aunque se varíen las condiciones de la experiencia, diluición, temperatura, naturaleza de electrodos, etc., etc. Faraday fué el primero que conoció esta relación o proporcionalidad rigurosa, y la enunció en forma de ley, por lo que se denomina *faraday*, a la cantidad F de electricidad (equivalente a 96.550 culombios), necesaria para la descomposición por electrolisis de una molécula gramo de cloruro potásico por ejemplo, es decir, que la carga que posee el ión gramo, es el faraday. En todos los casos, un ión gramo de elemento o de radical monovalente tiene por carga eléctrica un faraday. En el caso del cloruro de bario, sería preciso hacer pasar por el electrolito dos faraday para descomponer una molécula gramo, por ser el ión bario bivalente y todo ión polivalente lleva tantas veces esta carga, como unidades posea su valencia.

Los iones monovalentes, poseen la misma carga elemental e, que será igual al cociente de dividir un faraday por la constante de Avogadro; esta carga elemental será conocida, conociendo la constante de Avogadro, o número real de moléculas contenidas en la molécula gramo. Las cargas eléctricas transportadas por los iones son enormes y será conveniente decir algo sobre su magnitud, porque siempre existen en la materia viva iones dispersos y así tendremos idea de uno de los sumandos de la enorme cantidad de energía que posee aun la pequeñísima cantidad de materia viva que precisa para que los fenómenos vitales se manifiesten. Perrín dice[8] que se puede tener idea de la carga eléctrica transportada por los iones, aplicando la ley de Coulomb a dos supuestas esferas que contuviera cada una, un átomo miligramo de ión monovalente: si estas esferas, se colocaran a un centímetro de distancia, se atraerían o se repelerían (según el signo de sus respectivas cargas) con una fuerza equivalente al peso de cien trillones de toneladas!

Grado de disociación iónica.

El número de moléculas ionizadas (disociadas), en una disolución, o *coeficiente de disociación iónica*, varía con la naturaleza de los cuerpos disueltos, y con la concentración de la disolución. En general, existen en todas las disoluciones en las que se produce este fenómeno, un cierto número de moléculas disociadas y otras sin disociar, produciéndose entre unas y otras un estado de equilibrio que depende para un cuerpo dado, de la temperatura y de la dilución. Si la dilución aumenta, aumenta también el grado de ionización y se admite una cierta dilución en la cual, la ionización sería completa; el sistema disperso así formado, será el de mayor grado de dispersión, pues las partículas dispersas, alcanzan el tamaño de ión que en algunos casos, es el tamaño del átomo.

Las reacciones químicas o biológicas producidas por los cuerpos que al disolverse se ionizan, no son acciones moleculares, sino iónicas, cuya intensidad es proporcional a la concentración iónica, o sea al número de iones contenidos en un volumen dado: es un error, apreciar por ejemplo la actividad de una sal como medicamento, teniendo en cuenta solamente su concentración molecular, el verdadero coeficiente de actividad, está dado por el grado de disociación iónica de su disolución.

Difusión de las disoluciones.

Dos disoluciones diferentes puestas en contacto, con las debidas precauciones para evitar la agitación de la masa, forman, pasado un cierto tiempo, un sistema homogéneo siempre que los disolventes, sean miscibles: las partículas del cuerpo disuelto, se dispersan por la masa total del disolvente, de la misma manera que las moléculas de una masa gaseosa, se distribuyen con uniformidad en la vasija que las contiene. Este fenómeno es de *difusión* y se realiza, aun cuando las disoluciones o la disolución y su disolvente, se separen por medio de una membrana orgánica o un tabique permeable cualquiera: si el transporte de materia que significa el fenómeno de la difusión, se realiza a través de membranas, se le llama *ósmosis* o *diálisis*. Thomas Graham, estudió este fenómeno y fué el primero que enunció leyes, relativas a la velocidad con que el fenómeno se realiza; esta velocidad de difusión, es proporcional a la temperatura y a la cantidad de cuerpo disuelto en presencia.

Coeficiente de difusión.

Según el concepto de Fick, es el coeficiente de difusión, la cantidad de substancia que en la unidad de tiempo atraviesa la unidad de sección de una columna líquida de la unidad de longitud y tal que entre sus dos extremos existe una unidad de diferencia de concentración o según la modificación de Nernst, una unidad de diferencia en la presión osmótica.

División de los cuerpos en cristaloides y coloides.

También dedujo Graham, que la velocidad de difusión depende de la naturaleza de los cuerpos disueltos y estudiado el fenómeno separando los sistemas iniciales con una membrana permeable, estableció una división de los cuerpos en *cristaloides* y *coloides* incluyendo en el primer grupo, a los que como la mayoría de los ácidos, y de las sales, y muchos cuerpos orgánicos, una vez disueltos, atraviesan por ósmosis las membranas o tabiques permeables, y *coloides* a los que en estas condiciones no se difunden o se difunden muy poco: los *dializadores* son los sencillos aparatos que se utilizan para practicar la separación de los cuerpos que con ese distinto carácter se encontraran en una misma disolución.

Esta clasificación de Graham, no puede tomarse en sentido estricto, porque muchísimos cuerpos pueden presentar el carácter de cristaloide o de coloide, según haya sido producida su

dispersión en el disolvente. El carácter coloide no puede admitirse como propiedad de determinados cuerpos, sino que se ha de sustituir por el concepto *estado coloide* que adoptan los cuerpos en condiciones que ya hemos definido y que más adelante estudiaremos.

Coeficiente de partición.

Si las disoluciones cuyo contacto consideramos, estuvieran hechas con disolventes no miscibles, se realiza también la difusión en el sentido de que hay transporte de materia disuelta de uno a otro disolvente, pero una vez establecido el equilibrio, ni el sistema resultante es homogéneo, ni la concentración de las dos disoluciones es la misma, pues el cuerpo disuelto no se reparte con uniformidad como en el caso de líquidos miscibles que es el caso general, sino que se distribuye entre los dos disolventes en presencia, en tal proporción, que las cantidades de cuerpo disuelto contenidas en volúmenes iguales de los dos disolventes, están en una relación constante que se denomina *coeficiente de partición*.

Membranas semipermeables

Estudiando la difusión de las disoluciones, se han encontrado algunas membranas porosas que presentan la propiedad de ser permeables, de dejarse atravesar por el disolvente, e impermeables para las partículas del cuerpo disperso o disuelto: a estos tabiques se les llama semipermeables y están formados por materia que de su estado coloidal se coagula, y a la cual para las experiencias de Laboratorio, se le da la rigidez necesaria, formando un tabique de materia coloide, en el interior de una masa sólida porosa que se deja atravesar en sentido contrario por dos disoluciones que al encontrarse en el interior de la masa porosa, reaccionan produciendo un cuerpo en estado coloidal que coagula rápidamente y forma así el tabique semipermeable. Estas membranas, formadas por algunos precipitados de compuestos químicos, fueron conocidas, por Moritz Traube, en 1867, quien realizó con ellas una serie de interesantes investigaciones [9].

Presión osmótica.

Si suponemos en la masa de una disolución una superficie horizontal que la divida en dos partes, la disolución estará en equilibrio, o la difusión habrá cesado, cuando la sección considerada, sea atravesada en la unidad de tiempo por un mismo número de moléculas en las dos direcciones opuestas de arriba abajo y de abajo arriba: pero si la superficie de separación su-

puesta, fuera semipermeable, las partículas del cuerpo disuelto que a ella llegan y no la pueden atravesar, ejercerán sobre ésta una presión que en las condiciones supuestas será igual en los dos sentidos por ser de concentración uniforme, las dos partes en que se divide la disolución. A esta presión que las partículas de los cuerpos disueltos ejercen sobre las moléculas del disolvente y sobre las paredes de las vasijas donde están contenidas, se denomina *presión osmótica.*

Conservadas las disoluciones en vasijas de vidrio, por ejemplo, como ordinariamente se las conserva, la presión osmótica no se manifiesta, porque la resistencia de las paredes de la vasija y en la superficie libre, la fuerza de la tensión superficial del disolvente, impiden que la presión osmótica realice efecto alguno visible. Las partículas de un cuerpo disuelto, deben considerarse *encerradas* en su disolvente, como las moléculas de una masa gaseosa a mayor o menor presión, encerrada en un recipiente de paredes muy resistentes.

Para poner en evidencia la presión osmótica, hay que suprimir la superficie libre de la disolución, y esto se consigue, utilizando como artificio experimental membranas semipermeables, que por su condición, no interrumpen la continuidad del disolvente, pero forman una verdadera pared impermeable, para las partículas del cuerpo disuelto; quedando anulada así en la superficie de la membrana, la tensión superficial del disolvente, la presión osmótica puede manifestarse, y con este artificio experimental se ha estudiado. El orden de magnitud de esta presión es grande; una disolución de azúcar al 6 por 100, desarrolla una presión osmótica de 4 atmósferas.

Variaciones de la presión osmótica.

A temperatura constante, la presión osmótica *es proporcional a la concentración de la disolución* (ley de Pfeffer) siendo además independiente de la naturaleza química de los cuerpos disueltos. Por ejemplo, en disoluciones de azúcar al 1, 2 ó 4 por 100, las respectivas presiones osmóticas, equivalen a 555, 1.020 y 2.024 milímetros de mercurio, números estos, que sensiblemente se encuentran en la relación de 1, 2 y 4. Esta ley es completamente semejante a la ley de Mariotte y Boyle para el estado gaseoso. Si representamos por π la presión osmótica y por v el volumen de la disolución, tendremos $\pi . v =$ constante.

Si la temperatura de las disoluciones varía, la presión osmótica sufre variaciones proporcionales, cualquiera que sea la naturaleza química de la materia disuelta, luego la presión osmotica, como la presión de una masa gaseosa, es proporcional a las temperaturas absolutas (ley de Gay Lussac referente al estado gaseoso) y el coeficiente de aumento de presión osmótica por variación de un grado de temperatura, es igual al de expansión o dilatación de los gases.

Cuando dos disoluciones tienen a igualdad de temperatura igual presión osmótica, *tienen a igualdad de volumen igual número de moléculas*, ley análoga a la de Avogadro y Ampère referente a gases. A las disoluciones que satisfacen esta condición se las llama isosmóticas o isotónicas, designándose con los nombres de hipertónicas o hipotónicas, a las que tienen respectivamente mas o menos presion osmótica, que otra que se toma como término de comparación.

Cuando decimos moléculas disueltas, hemos de comprender partículas dispersas en la disolución y así tienen satisfactoria explicacion los errores que al estudiar experimentalmente las citadas leyes, se encuentran. Las disoluciones que son electrolitos, es decir, las ionizadas, presentan una presión osmótica mayor que la que les corresponde por el peso de la materia disuelta comparada con disoluciones de azúcar, porque parcialmente se encuentra el cuerpo disuelto ionizado, y el número de partículas *osmóticamente activas*, es mayor porque muchas moléculas se encuentran fraccionadas en dos partes o en tres o más, según la estructura química del cuerpo de que se trate. Si al contrario, al disolver un cuerpo sus moléculas se polimerizaran (ejemplo, ácidos orgánicos disueltos en benceno) el número de partículas osmóticamente activas será menor que el de sus disoluciones equimoleculares, y por lo tanto, la presión osmótica que se manifieste, será menor que la que presenten las disoluciones de cuerpos dispersos hasta la molécula unitaria.

La presión osmótica, es la propiedad de las disoluciones que más importante papel juega en el desarrollo de la Química física moderna [10].

En los fenómenos bioquímicos, en Biología, tiene gran interés el estudio de la presión osmótica; la capa límite del plasma

celular, es semipermeable; el líquido celular, contiene materias en disolucion que producirán sobre esa capa límite envolvente, los efectos de la presión osmótica. Introducidas las células en una disolución acuosa cuya presión osmótica sea mayor que la del líquido celular, éste, cederá agua a la disolución que le envuelve y la célula se contraerá verificándose una retracción del ventrículo protoplásmico que lo desprende de la membrana celular, a este fenómeno se denomina *plasmolisis*. En cambio, si la presión osmótica del interior de la célula, es mayor que la de la disolución que la envuelve, penetra agua en el interior de la célula, aumenta ésta de volumen y entonces se dice que la célula está en *turgescencia*.

Los líquidos que se encuentran en todos los organismos vivos, tienen una determinada presión osmótica, cuyo valor, se modifica oscilando alrededor de un límite; así tiene lugar el arrastre de agua, necesaria para la disolución y eliminación de diversas substancias, que el organismo elabora o transforma en su trabajo bioquímico.

Las leyes de los gases se cumplen en las disoluciones.

Conocidos ya los hechos experimentales por los que pudieron establecerse las leyes que dejamos enunciadas, Van t' Hoff enuncia su ley diciendo: «que toda materia disuelta, ejerce sobre una pared que la detiene y no deja pasar más que su disolvente, una presión osmótica igual a la presión que desarrollaría una masa gaseosa que contuviera tantas moléculas, como moléculas disueltas existan en la disolución, y cuyo volumen fuera igual al volumen de la disolución considerada». Una molécula gramo de gas clorhídrico (36,4 grs. o 22,412 litros) encerrada en una vasija de un litro de capacidad, desarrolla 22 atmósferas de presión, y una molécula gramo de gas clorhídrico (36,4 grs.) disuelta en un litro de agua, desarrolla una presión osmótica equivalente a 22 atmósferas. Van t' Hoff descubre las analogías que existen entre los cuerpos disueltos y los cuerpos gaseosos, establece la igualdad entre las presiones osmótica y gaseosa y demuestra que la ecuación de los gases perfectos, de Clapeyron, $PV = RT$ se aplica a los cuerpos disueltos, sin necesidad de modificar el valor de la constante R, siempre que las disoluciones se consideren diluídas en grado suficiente.

Pero la fórmula de Clapeyron, sólo es aplicable al caso teó-

rico de un gas perfecto, en los casos reales, y a fuertes presiones, pierde su validez: ha sido preciso pues introducir en esta ecuación, las correcciones necesarias para ponerla en armonía con los hechos experimentales, y fué Van der Waals quien realizó este trabajo, llegando a la ecuación general de los gases:

$$\left(p + \frac{a}{v^2}\right)(v - b) = R\,T,$$

en donde p, v representan respectivamente, el volumen y la presión del gas; b, el volumen real de las moléculas que forman la masa gaseosa (covolumen); a, la acción atractiva mutua de las moléculas; T, la temperatura absoluta, y R, la constante cuyo valor $R = 84723$, es el mismo que en la fórmula de Clapeyron.

Estudiando las presiones osmóticas para comprobar experimentalmente la fórmula de Clapeyron, aplicada por Van t' Hoff a las disoluciones, se encuentra, que si las disoluciones no son muy diluídas, no es rigurosamente proporcional la presión osmótica y la concentración molecular; luego es necesario hallar una expresión de mayor amplitud en sus aplicaciones, que defina si esto es posible, de una manera general, a todas las disoluciones sea cualquiera su concentración. Berkeley y Hartley modificaron la ecuación de Van der Waals, encontrando una expresión que se acomoda a las investigaciones efectuadas, llegando a la fórmula:

$$\left(\frac{A}{v} - P + \frac{a}{v^2}\right)(v - b) = R\,T,$$

que contiene las relaciones experimentales que los autores han comprobado. Los factores $\frac{A}{v}$ y $\frac{a}{v^2}$, representan, el primero la atracción entre las moléculas del disolvente y las del cuerpo disuelto, y el segundo la atracción recíproca entre las moléculas del cuerpo disuelto.

Sin embargo, por este camino de comprobaciones parciales no se llega a una teoría general de las disoluciones; la ecuación de Van t' Hoff contiene una hermosa generalización; pero es el resultado de una deducción termodinámica, afirmada sobre hipótesis que no son aceptables en el caso de disoluciones concen-

tradas. «Hay pues que volver en la deducción termodinámica de la teoria de Van t' Hoff, al punto preciso donde fueron introducidas las hipótesis, para fundamentarlas sobre bases más amplias y generales, al mismo tiempo que se da cabida a nuevos factores que indiscutiblemente se presentan, determinando una influencia poderosa, a medida que las concentraciones se hacen mayores» [11].

Crioscopia.

Por el hecho de la disolución, varían las constantes físicas del disolvente, entre otras, su temperatura de solidificación, pues el disolvente se solidifica en una disolución, siempre a temperatura inferior a la de solidificación del disolvente puro. Blagden demostró en 1879, que este descenso en la temperatura de solidificación del disolvente, es proporcional a la concentración de la disolución. Mientras la concentración no sea muy elevada, el hielo obtenido, es el disolvente puro solidificado.

La temperatura a que coexisten los estados sólido y líquido, es la temperatura de solidificación o de fusión del cuerpo considerado; esta condición se realiza, a la temperatura que los estados sólido y líquido tienen igual tensión de vapor. La tensión de vapor de un cuerpo en una mezcla física (un disolvente en una disolución, por ejemplo), es menor que la que posee en estado puro, luego el punto de solidificación, como de intersección de las curvas que representan las tensiones de vapor de los estados sólido y líquido del disolvente, descenderá en las disoluciones.

Ley de crioscopia.

Deducida por determinaciones experimentales, Raoult estableció en 1885 la ley fundamental crioscópica que dice «si en volúmenes iguales de un disolvente cualquiera, se disuelven cantidades equimoleculares (pesos proporcionales o iguales a sus respectivos pesos moleculares) de diversas substancias, el descenso en la temperatura de solidificación es el mismo» de donde se deduce, que el descenso del punto de solidificación, depende del número de moléculas disueltas, o mejor dicho, del número de partículas dispersas en la disolución; es decir, que el descenso en la temperatura de solidificación del disolvente, es proporcional a la cantidad de materia disuelta, siempre que en la disolución se halle dispersa en estado de moléculas unitarias, sin disociación ni polimerización parcial o total (Van t' Hoff). De

Tonometría. La tensión de vapor de los disolventes, varía cuando se ha realizado una disolución, y esta variación, es siempre en sentido negativo; es decir, que la tensión de vapor de un disolvente en una disolución, es menor que la del disolvente puro.

Babo y Wüllner, deducen de sus investigaciones experimentales, que la disminución relativa de la tensión de vapor, es proporcional al peso de la materia disuelta en 100 gramos de disolvente, o sea:

$$\frac{f - f'}{f \, . \, P} = \text{constante}$$

representando por f y f' respectivamente, las tensiones de vapor del disolvente y de la disolución, y P el peso de la materia disuelta.

Estudiando Raoult estos fenómenos, enuncia como consecuencia de su trabajo la siguiente ley: «si en varias disoluciones, es la misma la relación entre el número de moléculas del cuerpo disuelto y del disolvente, las disminuciones respectivas de las tensiones de vapor de los disolventes, serán iguales». También se enuncia esta ley diciendo: «Las disoluciones equimoleculares de diversos cuerpos, verificadas en un mismo peso de un mismo disolvente, manifiestan el mismo descenso en su tensión de vapor». Como consecuencia de esta ley se establece el hecho, de que la disminución relativa de la tensión de vapor de una disolución, es proporcional al número total de moléculas del sistema, o mejor dicho, a la concentración, lo cual establece la proporcionalidad con el número de partículas dispersas.

Deduce Raoult el concepto de disminución molecular de la tensión de vapor, estableciendo el hecho de que para un mismo disolvente, es constante, sea cualquiera la naturaleza de la substancia disuelta, referido a disoluciones que contengan moléculas unitarias dispersas; porque si la dispersión fuera de mayor grado (iónica) o de menor (condensación molecular) se originan como consecuencia, variaciones en la disminución molecular de tensión de vapor para un mismo disolvente. Representando f y f' respectivamente las tensiones de vapor del disolvente puro y de la disolución, m y p el peso molecular y el peso del cuerpo disuelto en 100 gramos de disolvente, se expresa el concepto de

disminución molecular de tensión de vapor por la fórmula:

$$A = \frac{f - f'}{f} \cdot \frac{m}{p}$$

Conocida la proporcionalidad que existe entre las variaciones de tensión de vapor de un cuerpo y su temperatura de ebullición, fácil es comprender, que las variaciones de tensión a que antes nos hemos referido, tendrán como consecuencia una elevación proporcional, en la temperatura de ebullición del disolvente, con relación a la que tenía en estado puro. Beckman y Raoult dedujeron de sus trabajos, que «la elevación en la temperatura de ebullición de una disolución (comparada con la del disolvente puro) es proporcional al peso de cuerpo disuelto en 100 gramos de disolvente» luego existe una elevación específica en la temperatura de ebullición que se expresa por la igualdad: Ebulloscopia.

$$\frac{\Delta T}{p} = \text{constante},$$

en la que ΔT representan la diferencia entre la temperatura de ebullición de la disolución y la del disolvente (elevación del punto de ebullición) y p el peso de la materia disuelta. El concepto de elevación molecular de la temperatura de ebullición se expresa por la igualdad:

$$M \cdot \frac{\Delta T}{p} = B = \text{constante},$$

en la que M representa el peso molecular del cuerpo disuelto, y B es una constante que varía en cada disolvente, pero que es independiente de la naturaleza del cuerpo disuelto, siempre que el grado de dispersión de las disoluciones que se comparan, sea el mismo.

Los fenómenos de disociación (ionización) o condensación molecular que se realizan en algunos casos de disolución, tienen la misma importancia que en el estudio de la presión osmótica, al estudiar los fenómenos de crioscopia, tonometría o ebulloscopia. Es preciso tener en cuenta, que las variaciones de tensión de vapor y las consecuentes variaciones en las temperaturas de

solidificación y de ebullición de los disolventes, se refieren, no a moléculas disueltas, sino a partículas dispersas, por lo cual, las variaciones enunciadas en forma de leyes, no se refieren realmente a la cantidad de cuerpo disuelto, más que en los casos en que la disolución se realiza de modo que quedan dispersas en el disolvente partículas que son moléculas unitarias: en los otros casos de disolución verdadera o solutoide hay que tener en cuenta el grado de ionización o de polimerización molecular, para interpretar los datos experimentales.

El estudio de las variaciones que sufren las constantes físicas consideradas del disolvente, nos sirve para formar un concepto exacto, dentro de las ideas actuales, de lo que es el fenómeno de la disolución en general, y para confirmar la teoría de la ionización de Arrhenius, sin la cual, no tendrían explicación satisfactoria no solo los fenómenos de electrolisis, sino las anomalías que en los fenómenos que acabamos de estudiar hemos citado.

Determinación del grado de disociación iónica.

Como aplicación de las ideas expuestas se deduce, que pueden hacerse determinaciones experimentales, de las variaciones de constantes físicas de disolventes o de presión osmótica para deducir como consecuencia, el grado de disociación iónica, o sea la fracción de moléculas disociadas, en una disolución que sea electrolito (disoluciones de ácidos, bases o sales). Haciendo aplicación de la crioscopia, por ejemplo, para resolver el caso, recordaremos que el descenso molecular crioscópico cuando el disolvente es agua, y el cuerpo disuelto ni se ioniza ni se polimeriza al disolverse, es, operando con un litro de disolución, $K' = 1,85$. Sea una disolución normal (una molécula gramo de cuerpo, disuelta en un litro de disolvente) cuyo descenso molecular determinado por la experiencia lo representaremos por c; representando por x el coeficiente de disociación iónica, que varía desde cero, valor que tiene en las disoluciones no ionizadas, hasta uno, que es el grado que tendrán las disoluciones completamente ionizadas, o sea aquellas en las que todas las moléculas del cuerpo disuelto se encuentren fraccionadas en iones. En la molécula gramo disuelta, tendremos $1 - x$ moléculas no disociadas. El número total de partículas dispersas en la disolución considerada, será, representando α el número de iones en que

se divide una molécula,

$$1 - x + \alpha x = 1 + (\alpha - 1) x$$

luego

$$1 + (\alpha - 1) x \cdot 1{,}85 = c$$

ecuación de la que una vez determinado experimentalmente el valor de c, deduciremos el valor de x, pues el de α conocido el cuerpo disuelto, se conoce.

ESTADO COLOIDAL (DISPERSOIDES)

Concepto del estado coloide.

El menor grado de dispersión que corresponde a las disoluciones verdaderas, o solutoides, es la forma de disolución en la cual las partículas, dispersas, son el resultado de una condensación molecular, cuyo grado se deduce por determinaciones crioscópicas o ebullométricas. Pero por este camino de polimerización de moléculas en el acto de la disolución, fácilmente se comprende que llegaremos a partículas cada vez mayores y producidas unas veces como resultado de la polimerización molecular del cuerpo disuelto, otras de la combinación por adsorción de las partículas dispersas en el disolvente, o con moléculas de otros cuerpos dispersos en la misma disolución.

La sistemática de Ostwald, ya citada (v. pág. 55), establece la agrupación de los sistemas dispersos colocando fuera de las disoluciones verdaderas, aquellas cuyas partículas dispersas tienen tamaño mayor de 0,001 μ; a partir de este tamaño, y considerando partículas cada vez de mayor magnitud, establece el tipo de dispersión coloidal, incluyendo en él todas las dispersiones en las que el tamaño de la partícula es mayor de 0,001 μ y llega como máximo, a 0,1 μ. Los cuerpos dispersos de este modo, poseen en su dispersión estado coloidal y el estudio del equilibrio de estos sistemas, ha sido tratado muy especialmente por Freundlich [14], Ostwald [15] y van Weimarn [16].

Estabilidad de los sistemas coloidales

Las partículas dispersas en los sistemas coloidales, se reparten uniformemente por la masa del medio de dispersión, pero no son visibles, porque variando la longitud de onda de la luz, de 0,7 μ a 0,4 μ, es claro que estas partículas cuyo tamaño máximo es 0,1 μ, no son visibles para nosotros y el líquido aparecerá

por consecuencia, perfectamente transparente. El tamaño de estas partículas dispersas en las disoluciones coloidales es tal, que por efecto de la viscosidad del medio, la intensidad de la gravedad no ejerce sobre ellas acciones por las cuales las separe de su medio de dispersión. Por otra parte, supuesta una disolución coloidal, puede deducirse su estabilidad, por aplicación de la ley de Stokes, referente a la velocidad V con que se depositan pequeñas esferas de radio R y de densidad S, que caen en un líquido (medio de dispersión) de densidad S': sea el coeficiente de frotamiento interno f y g la intensidad de la gravedad: tendremos aplicando la ley de Stokes:

$$V = \frac{2}{9} g (S - S') \frac{R^2}{f}$$

Según lo establecido en la sistemática de Ostwald, que sirve como patrón para clasificar los sistemas dispersos, las partículas dispersas en una disolución coloidal, tienen un diámetro menor de 0,1 μ y mayor de 0,001 μ; aplicando la fórmula citada en el caso del oro, cuerpo de gran densidad ($S = 19,5$) y supuestas las partículas de $R = 10\ \mu\mu$, calculando la velocidad de caída, resulta $V = 0,01$ met. por mes y si se hiciera el cálculo para cuerpos menos densos, el sulfuro de arsénico, por ejemplo, $S = 3$, el valor de V es próximamente, 0,001 *m.* por mes [17].

La dispersión coloidal será pues un sistema aparente homogéneo, pues sus partículas dispersas no serán visibles ni aun con ayuda del microscopio, por estar por su tamaño fuera del límite de visibilidad; pero en el concepto físico-químico, son sistemas heterogéneos bifásicos, en los cuales es íntima y recíproca la penetración de las dos fases, pero mecánicamente puede separarse la una de la otra (dialisis).

Diversas formas de dispersoides.

El grado de dispersión característico del grupo que Ostwald llama dispersoide, se alcanza sea sólido, líquido o gas, el medio de dispersión o el cuerpo que por su fraccionamiento forma la fase dispersa [18].

	Fase dispersa	Medios de dispersión.	EJEMPLOS
1	sólida.	sólido.	Disoluciones sólidas. Vidrio rojo de oro. Carbono en acero. Sal gemma azul (con sodio coloidal interpuesto).
2	líquida.	sólido.	Líquidos en los minerales. Agua de cristalización.
3	gas.	sólido.	Gases en los minerales. Hidrógeno en varios metales.
4	sólida.	líquido.	Disoluciones coloidales.
5	líquida.	líquido.	Emulsiones de aceite en agua.
6	gas.	líquido.	Aire en el agua.
7	sólida.	gas.	Humo en el aire. Polvo de $ClNH_4$ en el aire.
8	líquida.	gas.	Gases en estado crítico.
9	gas.	gas.	Que no es un dispersoide sino una difusión.

Las llamadas disoluciones coloidales, están incluídas en los grupos 4 y 5, casi siempre en el 4.

Fenómeno de Tyndall.

Que el sistema coloidal es heterogéneo, nos lo demuestra el fenómeno de Tyndall. Se produce este fenómeno, cuando se hace llegar un haz muy intenso de rayos luminosos, a una masa líquida, colocada en una cámara oscura; si esta masa es agua destilada a una disolución verdadera, no se ilumina (medio ópticamente vacío), pero si el líquido que la luz atraviesa contiene partículas en suspensión, del tamaño de las que forman sistemas coloidales o mayores, el medio se ilumina (medio ópticamente lleno). El hecho de ser un medio líquido ópticamente lleno, significa su condición de sistema heterogéneo. Si en las mismas condiciones que la masa líquida considerada, suponemos una masa gaseosa, que contenga partículas en suspensión, se iluminará, será medio ópticamente lleno, caso del aire, y la existencia de los polvos atmosféricos, son causa de los crepúsculos y de que se iluminen lugares a los que no llegan directamente los rayos del sol; por el contrario, si se trata de una masa ga-

seosa sin partículas en suspensión, tal como se supone el aire en las más altas capas atmosféricas, la masa gaseosa no se ilumina, por lo cual comprendemos la oscuridad de las últimas capas de la atmósfera y la de los espacios interplanetarios, pues en estos medios (ópticamente vacíos) no existen partículas, que al recibir las radiaciones solares absorban, para después emitir, radiaciones luminosas; es invisible el agente por el cual las cosas son visibles.

El fenómeno de Tyndall, no puede tomarse como diferencial, rigurosamente hablando, para establecer el carácter cristaloide o coloide de la materia (Barus y Schneider) [19], lo cual es muy lógico y además ha sido confirmado experimentalmente por Lobry de Bruyn y Wolf [20] operando con disoluciones de sacarosa y de rafinosa. Las condiciones de la experiencia, y sobre todo la intensidad de las iluminaciones, modifica en algunos sistemas la existencia del fenómeno.

Primeras observaciones sobre el estado coloide.

El primer experimentador que llamó la atención sobre estos sistemas coloidales, fué Selmi (1844) denominándoles *pseudo disoluciones* o *disoluciones aparentes*, demostrando en relación con sus propiedades generales, que se realizan sin variación de volumen ni de temperatura, y que las disoluciones salinas son capaces de precipitar los cuerpos aparentemente disueltos (1844-1847). A la substancia *pseudo disuelta*, la suponía en estado de suspensión o de emulsión [21].

Estudiando Graham, la difusión a través de tabiques permeables [22], observa que los cuerpos disueltos en las llamadas por Selmi pseudodisoluciones, no atraviesan estas membranas, y siendo un tipo de estas disoluciones la de cola, a los cuerpos capaces de formar de estas disoluciones aparentes, les llamó *coloides* (1861-1864). El que por dialisis se separe el medio de dispersión del cuerpo disperso, es una confirmación de que el sistema coloidal es bifásico, pues mecánicamente, se separan así los dos componentes del sistema.

A las disoluciones verdaderas, se las considera como monofásicas, y al sistema que forman como homogéneo físicamente, aun cuando en la teoría molecular es heterogéneo, pues diferentes son las moléculas del disolvente de las del cuerpo disuelto; por medios mecánicos, difícil es separar un cuerpo disuelto de

su disolvente; el tamaño de las partículas dispersas es tan pequeño, que atraviesan todos los tabiques permeables, su peso absoluto tan pequeño, que no es posible la separación del medio de dispersión; sin embargo, por centrifugación, se incrementa la intensidad de la gravedad, y así es posible separar parcialmente una de las fases, y el concepto establecido de sistema monofásico para las disoluciones verdaderas, hay que admitirlo con ciertas reservas. Los holandeses Van Calcar y C. A. Lobry de Bruyn, sometiendo a la centrifugación disoluciones salinas, han obtenido modificaciones notables en su concentración y hasta la cristalización, en la periferia del centrifugador, de casi la mitad de la sal, en una disolución saturada de sulfato sódico.

Nomenclatura.

Las disoluciones coloidales, o la dispersión de los cuerpos hasta el estado coloidal, no solo las realiza el agua, sino que también pueden hacerlo otros disolventes como el alcohol, benceno, glicerina, etc.; para diferenciar al nombrarlos estos sistemas, se les da la terminación genérica *sol* y para expresarlos en particular, se toma raíz del nombre del disolvente y se termina en *sol* (Graham); así se dice: *hidrosol*, *alcosol*, *glicerinosol*, según sea el medio de dispersión el agua, el alcohol o la glicerina. Si el disolvente es un compuesto orgánico, se designan también con el nombre de *organosoles*.

El estado coloide como propiedad general de la materia.

Los cuerpos dispersos en estado coloidal, tienen la propiedad de separarse de su medio de dispersión por muy variadas causas, el coloide separado de su medio de dispersión, se aglomera en copos formando un *gel* que según sea el medio de dispersión en que se forme se le llama *hidrogel*; *alcogel*, *glicerinogel*, etc. Este fenómeno constituye la coagulación.

No con propiedad, pero sí con mucha frecuencia, se dicen *coloides*, los cuerpos que cuando se dispersan en un disolvente, forman sistemas coloidales, y *cristaloides*, los que forman al disolverse dispersiones moleculares o iónicas; pero hay que tener bien presente la idea de que el fenómeno de la formación de un sistema coloidal es perfectamente general, que la muralla establecida por Graham ya se ha demolido y la materia es siempre susceptible de producir sistemas coloidales, no por simple acción del disolvente, sino utilizando medios experimentales adecuados, reducidos en último término a dispersar suficientemente el cuer-

po de que se trate en el medio de dispersión. Conviene observar, que un mismo cuerpo puede, por variación del disolvente, ser dispersado bien en forma de disolución verdadera, o bien en forma de disolución coloidal; ejemplo el oleato sódico (jabón) cuya disolución alcohólica es un solutoide y cuya disolución acuosa es coloidal. La propiedad coloide de una substancia, no es cualidad intrínseca inherente a la molécula del cuerpo, sino propiedad relativa que se manifiesta en presencia de un líquido determinado. Paterno[23] y Weirmarn[24] entre otros, consideran el estado coloide como propiedad general de la materia.

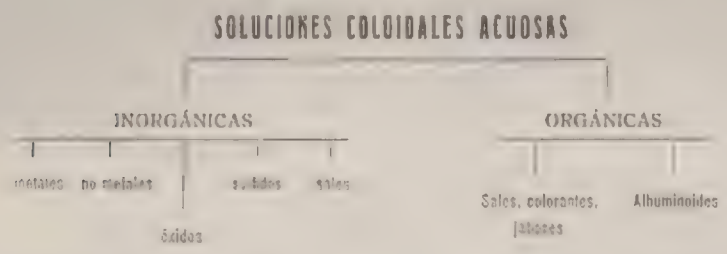
El estudio de los complejos heterogéneos coloidales por la relación que tiene con los mecanismos vitales, con las acciones catalíticas, etc., etc., tieneuna importancia extraordinaria. Entre los años 1860 y 1890, la literatura del estado coloide es escasa y se refiere principalmente a los fines analíticos de la dialisis, separando los cuerpos dispersos en estado coloidal de los dispersos en forma de disolución verdadera; por ejemplo el azúcar de la gelatina, si estos cuerpos se han disuelto juntos en una masa de agua. Pero a partir del año 1890, en que comenzó a utilizarse el ultramicroscopio como medio de observación, se ha podido comprender la inmensa trascendencia de estos estudios, y las investigaciones y las publicaciones referentes a estos asuntos, aumentan cada año extraordinariamente, estableciéndose una Química coloidal, cuyo objeto de estudio es la materia en estado coloide. El ultramicroscopio, pone de manifiesto la heterogeneidad de los sistemas coloidales, destacando en el fondo negro del campo ultramicroscópico, las partículas dispersas como puntos brillantes.

A los sistemas coloidales, les llamó Bredig *microheterogéneos*, queriendo significar, que en su condición de sistema heterogéneo, solo podemos observarles con medios de amplificación convenientes. A las pequeñas partículas dispersas en las disoluciones coloidales se las denomina *micelas* (Nägeli), principalmente por los biólogos, y esta palabra se conserva, representando una nueva individualidad física, muy compleja en su constitución, pero con caracteres bien definidos.

El conjunto de las disoluciones coloidales, ha sido clasificado

por Zsigmondy[25], tomando como base la constitución química del cuerpo disperso, en los grupos siguientes:

Clasificación de los hidrosoles, según Zsigmondy.



OBTENCIÓN DE CUERPOS EN ESTADO COLOIDAL

Dispersar un cuerpo para llevarlo a estado coloidal, es en otros términos, obtener su disolución coloidal y esta operación puede practicarse produciendo (métodos de dispersión) una finísima pulverización del cuerpo con que se opera en la masa de un líquido que no sea su disolvente. Claro es que la pulverización a que nos referimos no puede hacerse por los métodos ordinarios de pulverización, porque con estos llegaríamos a obtener partículas tan gruesas, que cuando son más pequeñas, no llegan a producir más que suspensiones casi siempre inestables: nos referimos a especiales medios de pulverización entre los cuales citamos en primer término, la pulverización eléctrica.

Pulverización eléctrica.

Cuando se produce una chispa eléctrica entre dos electrodos metálicos, los metales se pulverizan formándose en el catodo, cuando la descarga es suficientemente intensa, un gran número de partículas metálicas pequeñísimas[26] que si se recogen sobre una placa de vidrio, por ejemplo, se obtienen capas delgadísimas de polvo metálico. Este fenómeno fué conocido y descrito por J. W. Ritter y H. Davy. Si la descarga entre dos electrodos metálicos formados por el metal que se quiere pulverizar, se realiza en el seno de un líquido, las pequeñísimas partículas metálicas, se dispersan en él y se obtiene una disolución coloidal del metal[27]. Conviene advertir que para que esto ocurra, precisa, no solo una insolubilidad práctica del metal en el líquido en que se dispersa, sino también ausencia de reacción química, entre el metal y su medio de dispersión.

Por este método obtuvo Bredig[28] diferentes hidrosoles metá-

licos y es el que preferentemente se emplea cuando se quieren obtener disoluciones coloidales de metales nobles; es muy cómodo y rápido. Svedberg modifica la técnica del método aplicado por Bredig, condensando la descarga eléctrica por medio de un carrete de Ruhmkorff, e interponiendo en algunos casos pequeñas partículas metálicas entre los electrodos[29]: utilizó como medios de dispersión diferentes líquidos y entre otras disoluciones coloidales metálicas, son las más importantes las que obtuvo de los metales alcalinos, empleando como medios de dispersión el pentano y el éter anhidro[30] en las cuales su color recuerda el color de los vapores del metal disuelto.

Svedberg ha obtenido así, disoluciones coloidales de metaloides, silicio, fósforo, arsénico, carbono, azufre. Empleando como medios de dispersión el alcohol isobutírico o el éter butírico, obtuvo por pulverización eléctrica, organosoles de calcio, bario, estroncio, magnesio, zinc, cobre, estaño, antimonio, bismuto, manganeso, molibdeno, tunsgteno y otros.

Obtenemos los hidrosoles metálicos según estos métodos, empleando como medio de dispersión el agua bidestilada, en la que se sumergen dos hilos de 0,001 m. de diámetro aproximadamente, del metal noble, purísimo, cuya dispersión queremos practicar, unidos respectivamente con los extremos de unos conductores de corriente eléctrica, cuyo potencial sea de 60—75 voltios; aproximados los extremos de los hilos del metal que se dispersa, a conveniente distancia, salta entre ellos la chispa y se produce rodeando al catodo, una nebulosidad muy visible formada por el metal pulverizado y que se difunde por el líquido, dando lugar a la dispersión del grado coloidal. La concentración del dispersoide obtenido, se aprecia bien por las variaciones de color que se observan.

Mientras se produce por este método el hidrosol correspondiente al metal con que se trabaja, puede observarse un desprendimiento gaseoso producido al saltar la chispa en el seno del agua: el volumen de los gases así obtenidos, es muy distinto según sea el metal con que se opera; en el caso del platino la dispersión por pulverización eléctrica de 0,055 gramos del metal, solamente producen 0,5 c. c. de gases, mientras que en el caso de la plata, por cada 0,0575 gramos de metal disperso, se recogen

9,0 c. c. de gases. El estudio de este fenómeno comprendiendo el análisis de los gases producidos, lleva como consecuencia a conocer la constitución química de estos dispersoides metálicos y ello interesa mucho, porque entre estos sistemas coloidales se encuentra el de plata (electrargol), que es el más empleado en Medicina y que se supone formado por partículas de plata, sin que esta afirmación haya sido objeto de una comprobación rigurosa.

El Dr. Armisén ha realizado en nuestro Laboratorio algunos trabajos de investigación dirigidos al estudio de este fenómeno, íntimamente relacionado con la constitución química del coloide que se estudia. Cuando estudiemos más adelante el transporte eléctrico en los sistemas coloidales, daremos cuenta de los resultados de este trabajo.

Otros medios mecánicos menos importantes que el que acabamos de citar, pueden utilizarse para obtener en casos determinados la dispersión de un cuerpo hasta el grado coloidal; ejemplo, la difusión lenta, la solución de colorantes y de jabones, la de las gomas en disoluciones alcohólicas adicionando agua, etc.

A estos métodos de obtención de coloides, les denomina Burton, métodos por dispersión [18], porque al realizarse, se parte de masas no dispersas o a muy pequeño grado de dispersión, y en la práctica del método, el grado de dispersión aumenta, hasta el coloidal. Dentro de esta agrupación caben métodos químicos, dos: el uno que produce el grado coloidal a consecuencia de la eliminación por lavado de iones en presencia, y el otro el método denominado peptización.

Formación del coloide por eliminación de iones.

En algunos casos cuando se lava perfectamente un precipitado gelatinoso colocado sobre un filtro, hasta eliminar cuanto sea posible los iones que le acompañan, el líquido del lavado pasa turbio por los poros del filtro y es porque el precipitado gelatinoso (hidrogel), se dispersa en el agua formando una disolución coloidal: en la práctica del análisis se evita esta causa de error, lavando esos precipitados con disoluciones de electrolitos, para evitar así la formación del hidrosol.

Peptización.

Denominó Graham *peptización* [31], a la obtención de disoluciones coloidales que se realiza añadiendo ácidos o álcalis a hidrogeles, en los casos en que de este modo se logra reconstituir la

disolución coloidal que había coagulado; el nombre del método proviene de la analogía que hay entre esta acción y la dispersión de hidrogeles durante el proceso de la digestión animal.

Resumiendo en forma de cuadro sinóptico, los *métodos* de obtención de coloides *por dispersión* aparece en la forma siguiente:

Obtención de disoluciones coloidales por dispersión.—Métodos.

FÍSICOS....	MECÁNICOS.	Pulverizando. Solución de emulsoides. Solución de emulsantes y jabones. Gomas disueltas en alcohol y añadiendo agua.
	ELÉCTRICOS.	Pulverización de elementos en un líquido. Método Bredig. Svedberg. Billizer. Au. Pt. Ag. Pd. Ir. Hg. Cu. As. Bi. Sb. Pb. Sn. Ni. Cu. Mo. Wo. U. Fe. Va. Tl. Ta. Ce. Zn. Mn. Cr. Al. Ca. La. Mg. Co. Sr. Ba. Li. Na. K. Ru. Cs. C. Si. S. Se. Te. P.
QUÍMICOS..	LAVADO DE PRECIPITADOS PARA ARRASTRAR ELECTROLITOS.	*Elementos.* Pt. Wo. B. Si. Zr. *Óxidos.*—Sb. Si. Zr. Mn. *Ácidos.*—Mo. Va. *Sulfuros metálicos.*—Fe. Wo. Ir. Os. Cu. *Ioduro de calcio.*
	POR PEPTIZACIÓN.	*Con óxidos o sales.*—Au. Cr. Mn. Mo. U. Wo. Va. Ta. Ni. Ti. B. Si. Th. Zr. Pt. Os. Ir. Sn. Al. Fe. Cu. Cr. It. *Sulfidos.*—Au. Cu. Cd. Hg. *Ferrocianuros de hierro y de cobre.*

Los coloides pueden también obtenerse por muy variados métodos químicos, partiendo de disoluciones verdaderas, en las

que se varía el grado de dispersión, pasando el sistema de solutoide a dispersoide, siempre que el medio en que se opere, sea apropiado al fin propuesto. Burton [18], incluye este grupo de procedimientos en los métodos por condensación.

En varias obras especiales, aparece el detalle de la práctica de estos métodos, que a quien interesen, los encontrará detallados en las obras de Müller [32], Svedberg [33], Wo. Ostwald [15].

Obtención de coloides por doble descomposición.

Dentro de este grupo de métodos, está incluída la obtención de coloides por acción química entre disoluciones y entre estas acciones, las reacciones por doble descomposición, son las que con más frecuencia se usan y las más sencillas de practicar: tratando una sal que contenga el metal que ha de formar parte de la composición química del coloide, por un hidróxido o por un ácido, o por el sulfhídrico (Linder y Picton) [34], obtendremos respectivamente un hidróxido o un ácido, o un sulfuro coloidal: las siguientes igualdades químicas, representan tipos de estas reacciones:

$$Me\,X + Na\,OH = \underline{Me\,OH} + Na\,X$$

$$Me\,X + H_2\,S = \underline{Me\,S} + H_2\,X$$

Este método, produce la disolución coloidal en presencia de gran número de iones, que no solo impurifican la disolución obtenida, sino que influyen notablemente en la estabilidad del sistema coloidal. Por dialisis, puede hacerse la separación de iones y micelas hasta los límites de sensibilidad del análisis y obtendremos asi disoluciones coloidales purificadas y bastante estables.

Pueden también escogerse determinadas reacciones que produzcan el coloide libre de electrolito: así se obtiene el ácido silícico, por saponificación de su éter metilico (Grimaux), los sulfuros de zinc o de indio, haciendo pasar corriente de gas sulfhídrico por agua que contenga en suspensión los correspondientes hidróxidos bien lavados (Winssinger), o el sulfuro de arsénico o de antimonio, precipitando disoluciones de los sexquióxidos respectivos, libres de electrolitos (Schulze).

Para obtener disoluciones coloidales de sales por doble descomposición, el método general consiste en mezclar disoluciones diluídas de los precipitantes, en el seno de un líquido en el

que el cuerpo resultante de la reacción y que queremos dispersar hasta el grado coloidal, sea bastante insoluble; por ejemplo disoluciones acuosas muy diluidas de sulfato de sodio y de cloruro de bario, añadiendo alcohol al sulfato de sodio, antes de mezclarlo con el cloruro de bario. Si empleásemos el agua, la pequeña solubilidad del sulfato de bario en este medio, es causa de que el sulfato de bario disuelto, nutra las partículas dispersas que de este cuerpo se forman y por ello el sulfato bárico se deposita en forma de pequeños cristales; como la presencia del alcohol disminuye considerablemente la solubilidad del sulfato de bario, este se obtiene en estado coloidal. Aplicando estas ideas, encuentra explicación el hecho de que los precipitados recientes y obtenidos en frío de sulfato de bario, siendo el agua el medio de precipitación, atraviesen los filtros, mientras que los producidos en caliente y filtrando pasado un cierto tiempo, no pasan a través del filtro: es porque operando de este modo, los gránulos de sulfato de bario se nutren con el que se forma y queda un cierto tiempo disuelto.

Si quisiéramos obtener la disolución coloidal de cloruro de sodio [35] utilizaríamos para su formación la reacción entre el monocloro acetato de etilo sobre el éter malónico sodado:

$$CH\,Na\,(CO.OC_2H_5)_2$$

y así el cloruro de sodio, se dispersa en el éter etenil tricarboxílico, que simultáneamente se produce en esta reacción:

$$CH_2Cl - CO.OC_2H_5 + CH\,Na\,(CO.OC_2H_5)_2 =$$
$$= CH_2(CO.OC_2H_5) - CH - (CO.OC_2H_5)_2 + Na\,Cl$$

Hidrolisis.

Cuando el agua disuelve sales formadas por ácidos débiles y bases energicas, o por ácidos energicos y bases débiles, tienen estas disoluciones respectivamente reacción alcalina o ácida, por la acion hidrolítica que el agua ejerce sobre los iones de las sales disueltas. Si suponemos disuelta en el agua, la sal $Me\,X$, de aquellas condiciones, estará disociada parcialmente en sus iones Me' y X':

$$Me\,X \rightleftharpoons Me' + X'$$

y el proceso de la hidrolisis, se podrá representar por la igualdad:

$$Me^{\cdot} + X' + H.OH \rightleftharpoons Me.OH + HX.$$

La base formada, $Me\,OH$, y el ácido HX, sufren a su vez la disociación iónica y determinará el carácter de la disolución, el que de estos dos cuerpos se ionice más, o sea el más enérgico. El proceso hidrolítico es tanto más intenso, cuanto más se aumente la temperatura y el grado de diluición.

En el caso de los acetatos, como el ácido acético resultante de la hidrolisis es volátil, puede eliminarse por evaporación y así se obtienen algunos hidróxidos coloidales, por ejemplo el de hierro, haciendo una disolución muy diluída del acetato correspondiente en agua, y calentando para la volatilización del ácido acético, reponiendo el agua evaporada, hasta que todo el ácido acético haya desaparecido.

W. Biltz[36], obtuvo hidrosoles de hidróxidos de bismuto, cromo, zirconio, cerio, hierro y otros, disolviendo en agua los nitratos respectivos y dializando durante mucho tiempo estas disoluciones en agua pura, con lo cual conseguiá separar el ácido que hidroliticamente se formaba.

Por reducción química.

En las sales de metales nobles, pueden realizarse procesos químicos de reducción, por virtud de los cuales, los metales respectivos se ponen en libertad y puede realizarse la reducción de tal modo, que las partículas del metal aislado, alcancen el grado coloidal; después, se eliminan o no los iones en presencia, por medio de la dialisis.

Hidrosoles de plata, pueden obtenerse dentro de este método, y así lo obtuvo el primero el americano Carey Lea[37] reduciendo el nitrato de plata en disolución cítrica por el sulfato ferroso, o empleando como reductores el ferrotartrato de sodio o el de potasio en disoluciones acuosas diluídas de nitrato de plata. Se obtienen así, hidrosoles de mercurio, actuando como reductores el cloruro estannoso, el ácido pirogálico o el ácido hidrosulfuroso; de platino, reduciendo por medio del metanal o del hidrato de hidracina; los de osmio y paladio empleando la acroleína como reductor y los de oro, siendo para este caso reductores convenientes, el fósforo, el metanal, el acetileno, hidracina, hidroxilamina, fenilhidracina, acroleína. El hidrosol de oro, que se

emplea para el diagnóstico de la sífilis, operando con líquido céfalo-raquídeo, se obtiene[38] diluyendo en un litro de agua, 10 c. c. de una disolución de cloruro de oro décimo-normal y reduciéndolo por 10 c. c. de una disolución de glucosa al vigésimo en caliente, y alcalinizando con unos 4 c. c. de disolución de carbonato potásico al vigésimo, hasta que el líquido toma color rojo púrpura.

Por transformación de otro coloide.

Todavía pueden obtenerse disoluciones coloidales, por transformación química de otro cuerpo tomado en estado coloidal; por ejemplo: pasando por un hidrosol de ácido estánnico, corriente de gas sulfhídrico, se obtiene el sulfuro de estaño coloidal. También se producen algunos sistemas coloidales, por el esponjamiento que resulta en un cuerpo sólido por efecto de la corrosión, quedando el cuerpo en tal estado de división, que es posible su dispersión en un líquido hasta el grado coloidal, ejemplo: tratado el óxido de torio por un ácido, el residuo produce un hidrosol en contacto del agua.

Schutzcoloide.

Los denominados *Schutzcoloide*, se obtienen reteniendo por substancias añadidas a un sistema disperso, las pequeñas partículas de grado coloidal que en él hayan podido formarse; así por ejemplo, si a una disolución muy diluida de nitrato de plata, se le añade un poco de disolución de gelatina, y después otra disolución diluida de ioduro potásico, el ioduro insoluble de plata que se forma por acción mutua de las sales citadas, queda en el agua en estado coloidal; la gelatina ejerce una acción protectora impidiendo que las partículas coloidales de ioduro argéntico se aglomeren en masas mayores que formarían precipitado. Entre los cuerpos que pueden ejercer esta acción protectora, citamos la gelatina, vidrio soluble, goma arábiga, dextrina, ovoalbúmina, caseína, glicerina, almidón, etc.

Dentro de este grupo de formación de coloides, puede colocarse la reciente obtención de iodo coloidal realizada por Bordier y Boy[39], que operan, añadiendo tintura de iodo a una disolución de gelatina al 4 por 100, llegándose a obtener un sistema de iodo coloidal, que contiene una cantidad de iodo, diez veces mayor que la que puede dispersarse en el agua pura.

Como resumen de los métodos químicos de obtención de coloides que acabamos de citar, en todos los cuales el sistema co-

loidal se produce por condensación de partículas dispersas más pequeñas que las de grado coloidal, puede citarse el siguiente cuadro:

Métodos por condensación, para obtención de disoluciones coloidales.

Reducción química....	*Soles metálicos.*—Au. Pt. Pd. Ir. Rh. Ru. Os. Ag. Hg. Bi. Cu. Se. Te.
Oxidación química....	*Elementos.*—S. Se. Te.
Hidrolisis.....	*Oxidos ó hidróxidos.*—Bi. Pb. Sn. Zr. Th. Cs. Tl. Fe. Cr. Cu. Ce.
Doble descomposición.	*Acidos.*—Mo. Wo. Sn. Si. *Súlfidos.*—As. Sb. Bi. Sn. Zn. In. Cu. Pb. Ag. Hg. Te. Tl. Fe. Ni. Co. Mo. Wo. Au. Pd. Pt. Se.
Schutzcoloide.....	*Elementos.*—Au. Ag. Pt. Pd. Ro. Ru. Os. Hg. Se. Te. Ir. S. *Ioduros.*—Ag. Pb. Hg. *Súlfidos metálicos.*—Oxidos.—Fe. Mn. Cu. Ag. Hg. Co. Ni. Bi. *Cromato y fosfato de plata. Indigo.*

COMPARACIÓN DE LOS SISTEMAS COLOIDALES CON LOS SOLUTOIDES.

Entre los coloides y los cristaloides, se estableció en principio como carácter diferencial, el que los primeros no atraviesan por ósmosis las membranas permeables y los cristaloides, sí. Actualmente puede demostrarse, que entre unos y otros sistemas no hay más diferencias que las derivadas de su distinto grado de dispersión, siendo más que diferencias esenciales, variaciones de intensidad, en los fenómenos que en los sistemas dispersos se producen y se estudian.

Difusión de coloides

En la difusión de las disoluciones a través del papel pergamino o de las membranas que para la dialisis se utilizan, hay que tener en cuenta que estos tabiques no tienen sus poros iguales de unos a otros, ni aun son uniformes en una membrana dada; así que el estudio de la dialisis, merece hacerse con membranas

cuya porosidad sea de antemano conocida; resulta de aquí, que una dialisis que con determinada membrana se realiza con cierta velocidad, se verifica con distinta velocidad, sin más variación que el cambio de membrana.

Por otra parte, las investigaciones de Leplay, Meyer y Eykmann, demuestran que ciertos hidrosoles, pasan a través de membranas permeables. Spiro ha probado que la albúmina de huevo y la hemoglobina[40] pueden atravesar capas de cola, y Dauwe[41] que la pepsina penetra en un cilindro de albúmina de huevo coagulada, luego este carácter de difusión, como diferencial no puede admitirse; es simplemente una variación en la velocidad de difusión, las disoluciones coloidales atraviesan las membranas permeables, pero con una velocidad mucho menor que las de los cristaloides. La diferencia de velocidad, está en relación con el diferente tamaño de las partículas dispersas en uno y otro caso: a la temperatura de 10°, las partículas dispersas en una disolución de ácido clorhídrico, atraviesan las membranas permeables con una velocidad 49 veces mayor que las de albúmina y siete veces mayor que las de azúcar, dispersos estos cuerpos en agua (Graham)[42] de donde resulta que la diferencia entre estos sistemas, está representada por su diferente grado de dispersión.

De la teoría cinética de Riecke, se deduce que el coeficiente de difusión, está en razón inversa de la raíz cuadrada del peso molecular, y Herzog[43], haciendo determinaciones de coeficientes de difusión de disoluciones coloidales acuosas de albuminas, calculaba después pesos moleculares de aquellos albuminoides, obteniendo números muy concordantes con otros deducidos por distintos procedimientos. El oro coloidal posee a 17° una constante de difusión igual a 0,27 por día (Svedberg), los números correspondientes para el Cl_2, Br_2, I_2, son respectivamente 1,22-0,8-0,5 y las dispersiones albuminoideas, tienen un coeficiente de difusión de 10 a 50 veces más pequeño que el del I_2[44].

Variación de volumen al formarse una dispersión coloidal.

Al estudiar las disoluciones verdaderas, establecimos el hecho de que al verificarse una disolución hay variación de volumen, siendo siempre el volumen de una disolución, menor que la suma de los volúmenes de los componentes, de donde se deduce que se realiza un trabajo al verificarse una disolución;

también puede afirmarse esto mismo de las disoluciones coloidales, que no son siempre mezclas mecánicas, porque cuando se realizan, hay concentración de volumen. Si en un centímetro cúbico de agua se hacen disoluciones de gelatina al 10, 25 y 50 por 100, el volumen resultante es 0,960, 0,937 y 0,992 c. c. respectivamente en cada caso.

Presión osmótica en las disoluciones coloidales.

Las disoluciodes coloidales, poseen como las disoluciones verdaderas o solutoides, una presión osmótica mucho menor, como es natural, que la de estos. La pequeña velocidad de difusión de los sistemas coloidales, indica ya su pequeña presión osmótica y la gran resistencia de frotamiento que tienen que vencer sus partículas para moverse en su medio de dispersión. Pfeffer *, empleando membranas semipermeables de ferrocianuro de cobre, ha medido, en disoluciones acuosas de goma arábiga, a la temperatura de 15°, presiones osmóticas equivalentes a 6,9 y 119,2 centimetros de mercurio respectivamente, para concentraciones de 1 y 18 por 100: a estas mismas concentraciones, las disoluciones acuosas de sacarosa, a la misma temperatura, poseen una presión osmótica equivalente a 51,8 y 932,4 centímetros de mercurio.

Mediciones hechas por Linebarger en disoluciones coloidales de ácido túngstico, empleando como membrana el papel pergamino, han dado a la temperatura de 17° para una disolución que contiene por litro 24,67 gramos de este ácido, una presión osmótica equivalente a una columna de mercurio de 25,2 centímetros de altura, de donde tomando estas mediciones, como método experimental para la determinación de pesos moleculares, se llega al número 1750, equivalente a ($H_2\ WO_4$), Para este caso, en que por otros medios pudo determinarse antes el peso molecular del ácido túngstico y su fórmula $H_2\ WO_4$, el valor de la presión osmótica en su disolución coloidal, nos lleva a conocer la condensación molecular realizada para la formación de la micela.

Variaciones de tensión de vapor en los sistemas coloidales.

Se afirma muchas veces, sin juzgar bien sobre la realidad de estos fenómenos, que las disoluciones coloidales no presentan como los solutoides, las variaciones de tensión de vapor del disolvente que producen como consecuencia variaciones en la temperatura de solidificación y de ebullición, con relación a la del disolvente puro.

La pequeña presión osmótica observada en las disoluciones coloidales, ya nos previene, que las temperaturas de solidificación y de ebullición de estos sistemas, serán muy próximas á las del disolvente puro y así lo confirmó experimentalmente Tammann [46], demostrando que el agua experimenta disminuciones insignificantes, pero apreciables, en su tensión de vapor, cuando disuelve la gelatina, aun formando disoluciones concentradas. Sabaneief y Alexandrof [47] hicieron aplicación de los métodos crioscópicos, para determinar el pequeño descenso en el punto de congelación del disolvente, empleando disoluciones acuosas de ovoalbúmina, encontrando para concentraciones de 14,5, 21,6 y 44,5 por 100, respectivamente los números 0°,02, 0,°037 y 0°,060.

Comparando el punto de congelación de un medio de dispersión aislado del sistema por un filtro de colodion, con el del sistema total, se deducen pesos moleculares muy elevados, que oscilan entre 400 y 10.000 para los coloides inorgánicos, y entre 15.000 y 20.000 para los orgánicos.

Continuidad entre los solutoides y dispersoides.

Del estudio comparativo que acabamos de hacer entre los solutoides y los dispersoides puede deducirse, que entre unos y otros sistemas no hay más diferencia que la representada por su distinto grado de dispersión: las variaciones de velocidad de difusión, de presión osmótica, y todas las otras variaciones tonométricas, son función del tamaño de la partícula dispersa para concentraciones iguales y del número de partículas, para concentraciones distintas. Biltz estableció esta continuidad, afirmando [48] que entre las suspensiones y las verdaderas disoluciones, no existen límites precisos de separación.

Todavía queda como carácter diferencial, el que las disoluciones verdaderas se consideran como sistemas homogéneos en el concepto físico-químico, y los coloides, como sistemas heterogéneos bifásicos, debida esta diferencia, más que á la realidad, al valor actual de nuestros medios de investigación. Frente a la teoría molecular, en ninguno de los dos casos existe el sistema homogéneo frente á los hechos experimentales, la experiencia de Tyndall, al clasificar cada uno de estos sistemas en medios ópticamente llenos los unos (los dispersoides), y ópticamente vacíos los otros (los solutoides), diferencia unos de otros. Pero habre-

mos de tener en cuenta, que las partículas dispersas en un medio iluminado con intensidad dada, absorben la luz y después la emiten, en cantidad proporcional a su tamaño (Lord. Rayleigh). Si la intensidad de luz aumenta, se confirma experimentalmente, que aparecen visibles en el sistema, partículas que antes, a menor intensidad luminosa, permanecían invisibles. La mayor intensidad luminosa de que disponemos, procede de los rayos solares, y con estos, y por medios experimentales adecuados, nos damos cuenta de la presencia de partículas cuyo diámetro llega a 0,001 μ; las más pequeñas que este tamaño límite, no las percibimos, tanto por su pequeñez, cuanto por no disponer de mayores intensidades luminosas. Si pudiéramos experimentar con una luz tantas veces más intensa que la luz solar, cuantas veces más pequeña es la molécula unitaria dispersa que la partícula de diámetro 0,001 μ, sin duda que con medios de trabajo adecuados llegaríamos a resolver el sistema irresoluble que consideramos como ópticamente vacío y percibiríamos la posición y el movimiento de las moléculas dispersas y diríamos que los solutoides eran sistemas heterogéneos, como rigurosamente hablando lo son.

Heterogeneidad de los solutoides.

De estas consideraciones deducimos, que el diferenciar los solutoides de las disoluciones coloidales, porque los primeros son sistemas homogéneos y los segundos heterogéneos, no tiene más fundamento que la sensibilidad o el alcance de nuestros actuales métodos de investigación, la diferencia fundamental no radica más que en el distinto grado de dispersión de unos y otros sistemas, es decir, una diferencia de más a menos.

El estudio de los sistemas coloidales plantea un problema de gran importancia teórica, referente a investigar, cuál es el proceso por el cual se produce la fase dispersa. Los procedimientos para obtener los cuerpos en estado coloidal, se reducen en definitiva a dos tipos: unos que *dispersan* la materia de que se parte hasta el grado coloidal y otros, que partiendo de sistemas de mayor grado de dispersión (solutoides) *condensan* la materia hasta obtenerla en forma coloidal: estos hechos sugieren la idea de que la partícula coloidal, la micela, es un estado de equilibrio entre dos conjuntos de fuerzas opuestas, unas que tienden a aumentar el grado de dispersión y otras que tienden a disminuir-

Cómo se produce la fase dispersa en los coloides?

cristales: los cuerpos que difícilmente cristalizan en el medio en que se encuentran dispersos, tienen una cierta estabilidad en la primera forma en que se separan del medio de dispersión y esto constituye el estado coloidal. Confirma estas ideas A. W. La Perla [51], considerando la forma cristalina como la más estable que puede adoptar la materia y a ella llega, pasando en los primeros momentos de su formación, por el estado coloide.

Figura 9.ª

Figura 10

Figura 11

Esta continuidad entre los estados coloide y cristalino, tiene comprobación experimental que por diversos medios han realizado varios investigadores, entre ellos Kourilof [52], que operó por adición progresiva de amoníaco a disoluciones de cloruro de zinc.

Cristalización de los coloides.

Por nuestra parte, hemos realizado muy variadas experiencias para verificar el paso de sistema coloidal a cristalino, habiendo realizado este tránsito por variación de medio de dispersión y por coagulación eléctrica. Las figuras adjuntas representan el tránsito de sistema en la edestina, globulina que aislamos de la semilla del cáñamo según recomienda Bertrand [53]. Una vez obtenida la dispersión de edestina en solución acuosa de cloruro sódico al

10 por 100, procedimos a su cristalización por variación del medio de dispersión, en el que se modifica la concentración en cloruro de sodio, por adición de agua: puesto en la estufa a 70° un centímetro cúbico de dispersión de edestina, se añaden dos centímetros cúbicos de agua bidestilada, calentada también a 70° y se deja enfriar la mezcla muy lentamente dentro de la estufa. A medida que la temperatura desciende, el líquido se enturbia y cuando su temperatura llega a 10°, una gota del líquido turbio, observada al ultramicroscopio, presenta unos gránulos más gruesos que las micelas de edestina de que partimos y cuyo brillo denota ya su carácter cristalino: estas partículas que son verdaderos núcleos cristalinos ya nutridos, se mueven y en la placa han marcado su trayectoria con las líneas que aparecen en la fotografía núm. 6 que fué hecha con dos minutos de exposición. Pasadas unas horas, otra preparación del mismo líquido observada al ultramicroscopio, muestra los gránulos de mayor tamaño y sus movimientos más lentos, están representados en el mismo tiempo de exposición, por los cortos trazos que aparecen en la fig. núm 7. Algunos gránulos no se movieron y en ellos se aprecian bien dos direcciones de aglomeración de micelas con las que el cristal se nutre: en la fig. 8, aparecen más nutridos los mismos núcleos, señalándose bien la misma cara del cristal. Enfriando hasta 0° ya queda el líquido claro y aparece un sedimento cristalino, que observado al ultramicroscopio aparecen cristales octaédricos de edestina, que en la fotografía núm. 9 pueden observarse: pero mejor todavía en la observación microscópica, que representa la fotografía número 10 montado el microscopio con la misma combinación óptica que el ultramicroscopio. Por último, observando la misma preparación con menor aumento y mayor campo aparece como en la fotografía núm. 11 en la que se ve mejor la cristalización que de la globulina hemos realizado.

La cristalización de los coloides albuminoideos, tiene mayor interés que la de los coloides metálicos o salinos, pues el estudio de los cristales puros de albuminoides, debe ser la primera materia para el estudio de estos complejos orgánicos como especies químicas. Actualmente, se ha logrado ya la cristalización de muchos de ellos y este hecho modifica las ideas que muchos

investigadores, Pasteur entre ellos[54], establecieron, afirmando que eran compuestos incristalizables, porque por existir en sus moléculas más de tres grupos asimétricos, carecían de las condiciones precisas para que la cristalización tuviera lugar: la experiencia, ha desautorizado estas afirmaciones, y más adelante, al tratar de la coagulación, insistiremos sobre estas ideas.

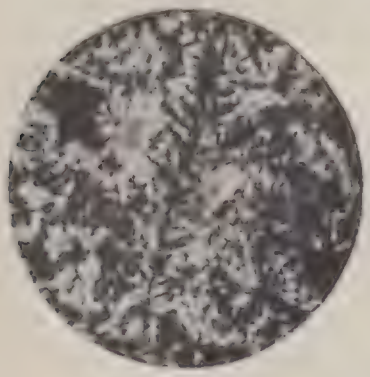


Figura 12

Otro caso de tránsito de sistemas coloidales a cristalinos, se observa, operando también por variación del medio de dispersión, obteniendo en estado coloide algunas sales, el sulfato de calcio por ejemplo disperso en agua-alcohol y cristalizando lentamente por variación de la concentración alcohólica.

También se puede pasar del estado coloide al cristalino, por coagulación eléctrica de sistemas coloidales y por este método que no tenemos noticia de que haya sido empleado para estudiar este tránsito por investigador alguno, hemos obtenido en nuestro Laboratorio, en colaboración con el Dr. Armisén, una porción de cuerpos cristalizados, entrelos cuales reproducimos aquí la fotografía núm. 12, que representa cristales de plata en formas dendríticas, cristalizaciones comprobadas por la observación al microscopio polarizante. Por ahora, basta fijar el hecho del tránsito, y mas adelante insistiremos sobre estos interesantes fenómenos, pero fijamos la idea de que el método es general y que con determinadas variaciones del medio de dispersión, puede aplicarse hasta a los sistemas reversibles.

Concepto del cristal.

Un cristal, según las actuales ideas cristalográficas, presenta un sistema uniforme de puntos alrededor de los cuales, las moléculas ejecutan sus armónicos movimientos. Si suponemos una superficie cristalina en contacto con un líquido, se perturba la regularidad de estos puntos y el movimiento de las moléculas (van Weimarn), cuyas propiedades se aproximan a las de las

capas internas de un líquido fuertemente comprimido. En estas condiciones el sistema, pueden considerarse dos factores que desempeñarán importante papel: el uno, es la influencia de las fuerzas moleculares vectoriales sobre las moléculas que forman la superficie sólida considerada, y el otro, el proceso cinético molecular que interviene, accionando sobre la superficie del cristal. La experiencia enseña que este segundo factor, trabaja con mayor energía que el primero. El poder relativo de estos dos factores, es para van Weimarn, la causa de formación de los sistemas coloidales y cualquier substancia podrá obtenerse en estado coloidal, una vez conocidas sus condiciones de solubilidad, concentración, etc. Confirmando esta hipótesis, este mismo investigador ha obtenido entre algunos cientos de soles, uno muy interesante, y no obtenido antes por ningún otro, el del hielo.

Teoría de van Weimarn

P. van Weimarn, sostiene en su teoría sobre la cristalinidad, que las partículas dispersas en una disolución coloidal, son pequeños cristales; que el estado cristalino, es el único estado posible de la materia, no existiendo la materia en estado amorfo: admite que substancias como el aire y el agua, forman un *estado dinámico cripto-cristalino.* Al publicar su trabajo van Weimarn [16] establece las conclusiones siguientes: 1.ª Las partículas coloidales, se convierten en cristales, cuando se las nutre convenientemente, bajo forma de una disolución diluida de la misma substancia. 2.ª Las partículas coloidales, pueden, cuando se introducen en una disolución sobresaturada de la misma substancia, destruir la sobresaturación y provocar la formación de cristales.

Algunas propiedades ópticas de los sistemas coloidales, por ejemplo, la dispersión de colores en el campo del ultramicroscopio, que con tanta facilidad se obtiene, sin más que cambiar la dirección de los rayos de iluminación, confirman la idea fundamental de la teoría de Weimarn, admitiendo la cristalinidad de la fase dispersa. El notable químico Frankenhein, combatió durante toda su vida la idea del amorfismo, asegurando que no puede probarse que existe verdadera amorfia.

Coagulación de los coloides

Al estudiar el estado coloidal, citan la totalidad de los autores el fenómeno de la coagulación como característico y aun

algunos, buscan en este fenómeno caracteres diferenciales de sistemas coloidales y disoluciones verdaderas, distinguiendo artificialmente, hechos fundamentalmente idénticos.

Por el fenómeno de la coagulación, las partículas dispersas en una disolución coloidal, se separan de su medio de dispersión, formando aglomeraciones visibles directamente por su gran tamaño, siendo varios los agentes físicos y las acciones químicas que llevan a este resultado. En la nomenclatura adoptada, a la materia así separada de su medio de dispersión, se la denomina *gel*, y según sea aquel, se dice *hidrogel*, *alcogel*, *glicerinogel*, etc.

Más adelante dedicaremos un capítulo al estudio de este fenómeno, para demostrar que no es característico del sistema coloidal más que por el nombre que convencionalmente se admite por todos, y que este fenómeno, es esencialmente idéntico a las precipitaciones que se forman, cuando en un solutoide se insolubiliza por cualquier medio físico o químico el cuerpo disperso.

QUÍMICA COLOIDAL

El estudio químico de la materia en estado coloidal, su estructura y sus propiedades características, adquiere cada día una mayor importancia, porque son muchos los fenómenos, que solo en el estudio de los sistemas coloidales encuentran explicación satisfactoria.

Química coloidal y Biología.

En Biología general, muy especialmente en Bioquímica, tiene el estudio del estado coloidal una importancia de primer orden. La materia viva es en su mayor parte un complejo coloidal de composición muy complicada y mientras los procesos vitales se realizan, la materia viva conserva su estado coloidal: todos los complicados fenómenos de metabolismo celular, tienen lugar por transformación de sistemas coloidales. Los líquidos que circulan por los organismos, con los cuales se realiza el transporte de materias nutritivas, contienen sistemas coloidales: las materias albuminoideas forman sistemas coloidales que han sido objeto de numerosos estudios, por ser fundamental en bioquímica, conocer las propiedades de estos sistemas [55].

Los fenómenos de asimilación y los de defensa del organis-

mo, pueden explicarse por reacciones de adsorción entre coloides: la fijación de toxinas por los coloides celulares, resulta por una afinidad de este género: la formación de los complejos coloide toxina, trae como consecuencia, modificaciones fundamentales en la funcion química de los coloides celulares[56]. La antitoxina, será un cuerpo de afinidad idéntica a la del plasma celular y formará con la toxina complejos insolubles.

Tomando como base la Química coloidal, pueden explicarse gran número de síntomas mórbidos que son en definitiva procesos realizados sobre coloides[57]. En varias ramas de la medicina se investiga tomando como base el estudio de los sistemas coloidales[58].

Química coloidal y terapéutica.

La actividad terapéutica de ciertos medicamentos, se explica por su alto grado de dispersión o por su estado coloidal. Los agentes medicinales deben administrarse en tal forma, que actúen sobre el organismo con la accion que le es propia, adaptándose a las condiciones naturales de la materia viva, por naturaleza coloidal.

Entre los medicamentos coloidales de uso frecuente, tienen particular interés, las disoluciones coloidales metálicas (principalmente las de plata), que por sus propiedades fisicoquímicas, catalíticas, bactericidas y diastásicas, constituyen uno de los métodos más interesantes, recientemente introducido en Terapéutica. Su carácter de catalizadores de los procesos de oxidacion, les hace aptos para destruir las toxinas de las enfermedades infecciosas[59]. El hidrosol de mercurio, se utiliza como sucedáneo de compuesto mercuriales para el tratamiento de la sífilis[60], y muchos otros medicamentos que en obras especiales se detallan, no son sino sistemas coloidales.

Las aguas minerales, poseen en muchos casos poder catalítico que se manifiesta, por ejemplo, por la descomposicion del agua oxigenada. Roger Glenard[61] investigó la causa de este poder catalítico en las aguas de Vichy, demostrando que procede del óxido de hierro coloidal que se forma cuando las aguas al brotar de la tierra, se ponen en contacto del aire, y que este proceder catalítico es temporal, desapareciendo casi por completo al tercer día. Estos estudios y otros análogos, tienen mucho interés en terapéutica.

En Química agrícola, interesa también el estudio de los sistemas coloidales, porque la tierra laborable, adsorbe gracias a los hidrogeles que posee, muchas materias que penetran en el suelo y que son necesarias para la nutrición de la planta; esta propiedad tiene gran importancia para el aprovechamiento de los abonos: por ella, las materias fertilizantes quedan retenidas en las capas de tierra laborable y no son arrastradas por las aguas a capas inferiores, en donde la planta no podría aprovecharlas. Las materias húmicas, coloidales, adsorben el ácido fosfórico, la potasa, en general, las materias fertilizantes.

Química coloidal y Química agrícola.

Los mucilagos vegetales, poseen igualmente propiedades análogas a las de los coloides; hasta las suspensiones de arcilla, de microbios, de arena, juegan importante papel en múltiples fenómenos de adsorción.

König, ha publicado[62] los resultados de las investigaciones realizadas con objeto de conocer las acciones de los coloides en las tierras laborables y entre otras, cita las de Rohland, demostrando que los coloides aumentan la viscosidad y la capacidad higroscópica del suelo, reteniendo en las tierras, las sales solubles arrastradas de las capas superficiales; la potasa es adsorbida por la arcilla coloidal, y el ácido fosfórico por la cal y los óxidos de hierro.

La materia, a partir de cualquier estado físico, sea gas sólido o líquido, es susceptible de dispersarse hasta el grado coloidal. P. Pawlow ha realizado diversas investigaciones de las que deduce, que las nubes están formadas por la coagulación del agua de la atmósfera.

En estos últimos años, Cornu hizo observar que un gran número de minerales, son por sus propiedades verdaderos geles y encuentra que las zonas de oxidación de los yacimientos metalíferos, contienen gran número de coloides. La Química coloidal explica satisfactoriamente la formación de dendritas, es decir, de formaciones ramificadas que son análogas a las que se obtienen cuando un solutoide se difunde en un gel. La Mineralogía debe al estudio de los sistemas coloidales, la explicación de la coloración de los cristales, en los cuales muchas veces el color cambia por las radiaciones del radio[63] y la explicación de muchos otros fenómenos que estudia[64].

La Química coloidal y la mineralogía.

Química coloidal y tecnología.

Bajo el punto de vista tecnológico e industrial, el estudio de los sistemas coloidales es muy importante, porque numerosas industrias químicas operan sobre cuerpos en estado coloidal[65].

La coloración de los vidrios, obtenida por dispersión en este medio sólido de partículas de grado coloidal; la fabricación de espejos por depósito de plata; la de lámparas de incandescencia, al tungsteno, la industria de la porcelana, el fraguado de los cementos[66], las *cuestiones fotográficas* que Lüppo-Cramer[67] resuelve aplicando el estudio de los sistemas coloidales, la fabricación del azúcar y de la cerveza, el curtido de pieles, la tintorería, la industria del caucho y otras varias, señalan la importancia que el estudio de la materia en ese particular estado de división que caracteriza el estado coloidal tiene, considerado en los variadísimos aspectos de la ciencia pura y de sus aplicaciones.

SUSPENSIONES Y EMULSIONES

En la clasificación que hace Ostwald de los sistemas dispersos, el grupo de las *dispersiones*, lo constituyen sistemas en los cuales la fase dispersa, está formada por partículas cuyo diámetro es mayor de 0,1 μ: como en los otros grupos, se atiende al estado físico del cuerpo que se dispersa para subdividirlo, y según sea éste, líquido o sólido, llama a las dispersiones, *emulsiones* o *suspensiones*, respectivamente.

Constitución de estos sistemas.

Estos sistemas son aparentemente heterogéneos: el tamaño de las partículas dispersas es casi siempre mayor que el tamaño límite de visibilidad y por ello aparecen en forma de líquidos turbios, cuyas partículas son visibles con ayuda del microscopio ordinario: muchas veces no son estables, y lo son menos, en los casos en que es mucha la diferencia entre la densidad del líquido medio de dispersión y la del cuerpo disperso (ley de Stokes); con facilidad se destruye el sistema en estos casos, apareciendo cremas o sedimentos, según sea el cuerpo disperso, menos o más denso que el medio de dispersión. Como ejemplo clásico, puede citarse para el primer caso la leche, en la que las partículas de manteca, tienen un diámetro de 2 a 10 μ; para el segundo, las suspensiones de almidón que se utilizan para su fabricación,

Separación de la fase dispersa.

cuyos diámetros varían de 2μ que presentan los de arroz, hasta los de fécula de patata que llegan al tamaño de 100 μ.

Se separa el cuerpo disperso, por la acción de su propio peso, y esta separación puede acelerarse, incrementando por medio de la centrifugación la intensidad de la gravedad; así se obtiene en un tubo de 0,10 m, una masa de fase dispersa separada, igual a la que se obtendría en el mismo tiempo, en un tubo de diez metros si el número de revoluciones del centrifugador es tal (2.500 vueltas por minuto a 0,15 m. del eje), que la intensidad de la gravedad sea mil veces mayor que la que actúa en las condiciones normales. De estos hechos se han deducido muchas aplicaciones industriales, como por ejemplo, la fabricación de mantecas.

En relación con estos hechos prácticos, por los cuales se deduce un método de separación de gránulos en las dipersiones, clasificados con arreglo a su masa, se encuentran los estudios del Profesor Dutoit[68] sobre la repartición de gases en la atmósfera y de cuerpos en disolución en el agua del mar: las observaciones experimentales, no confirman la teoría de repartición, pues deducen igual composición química para el aire al nivel medio del mar, que a 15.000 metros de altura, y unas variaciones en la composición química en el agua del mar muy irregulares, según la profundidad; admite como causa de esas discrepancias, la lentitud con que se establece en los flúidos del equilibrio cinético, y documenta con observaciones de Ph. Guye, De Wilde y A. Gautier que en las más altas capas de la atmósfera, se acumulan los gases menos densos, así como en las regiones profundas del mar, donde el agua no está agitada por corrientes, se contienen en disolución las sales de mayor peso molecular.

Las emulsiones se forman entre líquidos no miscibles; sea por ejemplo una grasa líquida o fundida en contacto del agua; por agitación o por otros medios, se divide la masa de grasa en fragmentos o partículas tan pequeños que forman con el agua un sistema estable por algún tiempo, que es la emulsión. Si el agua, medio de dispersión, contiene una pequeña cantidad de hidróxido de sodio o de potasio en disolución, las partículas grasas quedan dispersas en el agua un tiempo mucho mayor que en el caso anterior: las disoluciones de sosa o potasa, obran aquí

Estabilización de las dispersiones.

como estabilizadores, y para el mismo sistema, tienen la misma propiedad las disoluciones acuosas (coloidales) de jabón, la saponina, etc.: tipo de estabilizador de estas emulsiones grasas, es el jugo pancreático.

Como para los coloides, existen para las emulsiones y suspensiones, los estabilizadores, que aunque no tienen la importancia que el caso de los coloides, ni es tan duradera su acción, conviene citar, para relacionar uno con otro grado de dispersión.

Los emulsiones y las suspensiones, presentarán propiedades tanto más próximas a los sistemas coloidales, cuanto menor sea el tamaño de sus partículas, así las suspensiones de gruesos gránulos de almidón, no se modifican por la presencia de electrolitos, mientras que las de gránulos más finos, en presencia de disoluciones de cloruro de sodio, forman copos que recuerdan la coagulación de los coloides.

Líquidos turbios y gases nebulosos estudiados por el Dr. García de la Cruz.

El estudio de las suspensiones y emulsiones, relacionando sus propiedades con las de las otras formas de sistemas dispersos, se hace con base firme después de la orientación dada por Ostwald y de las admirables experiencias de Perrin. Pero antes de que estos trabajos fueran hechos, el Dr. García de la Cruz, estudió las propiedades de estos sistemas, en los que el llamaba *líquidos turbios y gases nebulosos* deduciendo de sus experiencias leyes mecánicas, que expresaban relaciones entre las propiedades de estos sistemas y las de los *líquidos claros*, que son los solutoides o dispersoides. [69]

Ley García de la Cruz, «La mezcla homogénea y suficientemente flúida de un líquido y un sólido pulverulento, funciona mecánicamente como un líquido claro, de densidad igual al cociente de la división de la suma de las masas de las substancias que constituyen el líquido turbio, por la suma de los volúmenes de las mismas». Esta ley se cumple tanto mejor, cuanto más pequeñas sean las partículas, y se aplica, sea cualquiera la naturaleza de las partículas y su estado físico antes de formar la dispersión, sólido (suspensión) o líquido (emulsión) o gas (espumas, líquidos espumosos) y su demostración y comprobación, se realiza mejor, si los enturbiamientos son debidos a partículas muy pequeñas de peso y volumen inalterable, es decir, en sistemas de mayor estabilidad. La demostración experimen-

tal de esta ley, la realizaba su autor, por medio de vasos comunicantes y por el densímetro; para los gases operaba con un pequeño globo aerostático.

Esta ley identifica fundamentalmente los tres grados de dispersión establecidos más tarde por Ostwald, sin más diferencia esencial, que las variaciones de volumen que al formarse cada sistema se realizan, variación, casi nula en las suspensiones y emulsiones, donde el volumen del sistema, es prácticamente una propiedad aditiva.

Estudios de Perrin

Los más importantes estudios sobre las propiedades de estos sistemas, han sido realizados por J. Perrin, y de ellos se deduce como consecuencia de gran valor teórico y experimental, que «las leyes de los gases se cumplen en las emulsiones diluídas» [70]; conclusión análoga a la que Van t' Hoff estableció para las disoluciones diluídas.

Obtención de emulsiones uniformes.

Comienza Perrin sus investigaciones, determinando con precisión, como puede obtenerse una emulsión conveniente para estos estudios, y afirma de paso que ha hecho, aunque sin resultado, algunos ensayos operando con disoluciones coloidales [8]. Escoge para sus experiencias dos resinas, la goma gutta y el mastic: la goma gutta, la dispersa mecánicamente en el agua, frotándola con las manos como si fuera una pastilla de jabón, obteniendo así una dispersión de color amarillo; de otro modo hace también esta dispersión, disolviendo la goma en alcohol y precipitándola después por adición de agua; de este modo obtiene emulsiones de mastic.

Ahora es preciso que las emulsiones obtenidas sean *uniformes*, es decir, de granulos iguales, y esto lo consigue, purificando primero la emulsión, para lo cual centrifuga, dispersa después el depósito obtenido en agua, repitiendo esta operación hasta que el líquido de dispersión sea agua prácticamente pura. Los gránulos de la dispersión así obtenida, serán de distinto tamaño y por medio de *centrifugación fraccionada*, consigue separar los más gruesos, que serán en cada operación los primeros que se depositen. Estas operaciones son largas y difíciles de practicar.

Determinación de la densidad de los gránulos.

Ya vez obtenida la emulsión conveniente, determina la densidad de la materia que forma los gránulos, sea por el método del frasco, operando como si los gránulos fueran un polvo inso-

luble, o determinando la densidad del cuerpo disperso, separándolo de la emulsión, por evaporación del medio de dispersión, y sumergiéndolo después en disoluciones acuosas de bromuro de potasio, hasta que los fragmentos quedan suspendidos (densidades iguales), o también añadiendo bromuro de potasio a una emulsión, hasta que una centrifugación enérgica no deposita gránulos, y determinando la densidad del líquido así obtenido.

Con los tres procedimientos obtiene números concordantes, respectivamente, 1,1942,—1,1940,—1,1950.

Determinación del radio de los gránulos.

Conocida la densidad de la materia que forma los gránulos, determina su volumen, midiendo directamente su radio por medio de la cámara clara, o por la pesada directa de los gránulos, o haciendo aplicación de la ley de Stokes: este último método es el más genial y queda determinado el diámetro, conociendo la velocidad de caída de los gránulos en su medio de dispersión, pues el frotamiento que se opone en un flúido de viscosidad z al movimiento de una esfera de radio a que posee velocidad v. es $6 \pi z a v$: por consiguiente, cuando la esfera cae por solo la acción de la gravedad, se tiene:

$$6 \pi z a v = \frac{4}{3} \pi a^3 (D - d) g.$$

En las determinaciones que Perrín hizo, siguiendo estos tres procedimientos, obtuvo números concordantes, 0,3710, 0,3667, y 0,3675, respectivamente.

Hemos citado ya al tratar de los solutoides, que las leyes fundamentales de la materia en estado gaseoso, se cumplen en las disoluciones diluidas, independientemente de la naturaleza del cuerpo disuelto, dependiendo unicamente del número de partículas dispersas; por extensión, ¿se cumplirán en el caso en que las partículas sean tan grandes que aparezcan como gránulos visibles que es el caso de las emulsiones? Esta pregunta se hace Perrín, y como consecuencia de su trabajo experimental, la contesta afirmativamente, estudiando la repartición de equilibrio de una columna gaseosa vertical, y comparándola con la de una columna de su emulsión uniforme [71].

La ley de rarefacción de Laplace, por la que se conoce la altitud de un lugar por observaciones barométricas, nos enseña

que los gases en columnas de enorme longitud, se aplastan en la parte inferior, a consecuencia de su propio peso, y de ella se deduce que en el aire, a 5.500 metros de altura sobre el nivel medio del mar, (6 kilómetros, en números redondos), la presión es de media atmósfera; pero si la atmósfera fuese de hidrógeno, gas que pesa 14,44 veces menos que el aire, la presión mitad, la encontraríamos a una altura de 80 kilómetros y si fuera la atmósfera de vapor de iodo, que pesa 8 veces más que el aire, la presión mitad, estaría a 700 metros de altura. En general, el producto del peso molecular, por la diferencia de alturas a que se obtiene para un gas la presión reducida a la mitad, es constante.

Las leyes de los gases se cumplen en las emulsiones diluidas.

Figura 13

Como la presión de una masa gaseosa es proporcional a la densidad, o sea al número de moléculas en la unidad de volumen, la relación entre sus presiones, puede ser reemplazada por la relación entre el número de moléculas existentes en los dos niveles de gas considerados.

Si demostrásemos que en las emulsiones ocurre esto mismo, podría deducirse que sus gránulos están dispuestos en capas horizontales como las moléculas en los gases. Y esto lo ha demostrado Perrín, observando al microscopio una gota de su emulsión uniforme, colocada en una cuba Zeiss de 0,1 m. de profundidad y cerrada con un cubre objetos cuyos bordes se cierran con parafina, para evitar la evaporación del medio de dispersión. Puesto el microscopio horizontal y la preparación vertical, observa que en la repartición de los gránulos de la emulsión, después que cesa la agitación producida por la colocación de la preparación vertical, existe (fig. 13) un régimen permanente en el cual, la concentración disminuye en la altura. Falta ahora determinar la relación entre el número de gránulos que existen a dos alturas distintas, para hacer las correspondientes comparaciones con los gases. Esta relación es constante a partir del momento en que se llega

al régimen permanente, y esta constancia sigue observándose, aun pasados 15 días después de hecha la preparación; al estado de régimen permanente se llega pasada una hora.

Cuenta Perrín las partículas a diferentes alturas, y encuentra para alturas:

5μ	35μ	65μ	95μ

respectivamente, los números:

100	47	22	12

sensiblemente iguales a:

100	48	23	11

que forman una progresión geométrica decreciente.

En otras varias determinaciones llega a resultados análogos y de ellas se deduce, que la ley de rarefacción se cumple en las emulsiones diluídas.

Si consideramos gránulos que a una diferencia de altura de 6 μ produzcan en la emulsión una concentración mitad, obteniéndose en el aire esta misma rarefacción a 6 km., tendremos dos sistemas en los que se llega a rarefacciones iguales en alturas que para el uno es mil millones de veces más grande que para el otro. Ahora bien; si la teoría es cierta, el peso de una molécula de gas del aire, será mil millones de veces menor que lo que pesa en el agua uno de los gránulos de la emulsión escogida. Aplicando a las emulsiones la ley de rarefacción, que como hemos visto cumplen, y calculando según la fórmula de Laplace la correspondiente a casos dados, tendremos: la molécula gramo de los gránulos, será Nm, siendo N la constante de Avogadro y m la masa de un gránulo: la fuerza debida al peso para cada gránulo, no será el peso mg sino su peso eficaz; es decir, el exceso de su peso sobre el empuje del líquido, expresado por el valor de $m \frac{d}{D} g$ siendo D la densidad de la materia que forma el gránulo y d la del líquido. Una pequeña diferencia de altura h, hará variar la riqueza en gránulos de n a n', según la ecuación:

Determinación de la constante de Avogadro.

$$\frac{n}{n'} = 1 - \frac{N}{RT} m \left(1 - \frac{d}{D}\right) g h.$$

Estudiando Perrín distintas emulsiones de gránulos diferentes, y en distinto medio de dispersión, determina con sus datos experimentales, en cada caso, el valor de la constante de Avogadro, N, y encuentra, no sólo que los valores obtenidos oscilan entre límites próximos, sino que estos valores están sensiblemente de acuerdo con el que se deduce por la teoría cinética de los gases, y esta concordancia tiene bajo el punto de vista teórico, una importancia de primer orden, pues no solo justifica las hipótesis establecidas para llegar a ella, sino que como deduce Perrín no puede negarse la realidad de la existencia de las moléculas, pues razonando como si existieran, y con bases experimentales muy distintas, se llega a resultados análogos.

Entre los números encontrados en estas experiencias por Perrín, estima mejor el $68{,}3 \cdot 10^{22}$.

En la teoría demostrada por Perrín, el valor de N, es igual a la repartición exponencial

$$N = \frac{R\,T \log. \frac{n_{,}}{n}}{\frac{4}{3}\,\pi\,a^3\,(\Delta - \delta)\,g\,h}$$

que para cada emulsión, tendrá un valor que puede determinarse.

En esta fórmula, $\frac{n_{,,}}{n}$ representa la relación de concentraciones a dos niveles determinados, que permanece constante varios días, después de llegar al cabo de unas tres horas a régimen permanente: $\Delta - \delta$ es la diferencia entre las densidades Δ del gránulo y δ del líquido medio de dispersión; h, es la distancia vertical de dos secciones horizontales de la emulsión, puestas a observación en el microscopio; a representa el radio del gránulo y R y T, son respectivamente, la constante de los gases y la temperatura absoluta.

Una emulsión es, según se deduce de los estudios de Perrín, una atmósfera de moléculas colosales en la que, por consecuencia de ello, su rarefacción es colosalmente rápida: en este concepto, la altura de los Alpes está representada por algunos micrones, pero las moléculas tienen la altura de las colinas (Perrín).

Una emulsión es una atmósfera en miniatura.

Una emulsión, es una atmósfera en miniatura, en la cual la rarefacción es enormemente rápida.

Queda establecida la semejanza que existe entre la constitución de los gases y la de las emulsiones, como Van t' Hoff estableció la analogía entre gases y solutoides: es lógico pensar, que en las disoluciones coloidales, intermedias entre esos dos grados de dispersión, ocurran las cosas del mismo modo, y las micelas dispersas en su medio de dispersión, tendrán las propiedades de las moléculas gaseosas, sin más diferencias que las de más a menos, que se derivan de la relación de sus respectivos tamaños. Así se deduce de los trabajos de Einstein, Perrín y Svedberg, entre otros, no habiendo por otra parte propiedad física alguna, que pueda servir para diferenciar esencialmente unos de otros sistemas.

Constitución químico-física de la materia viva.

Hecho ya el estudio de los sistemas dispersos, queda expresada cual es la constitución físico-química de la materia viva. El agua como medio de dispersión y en ella disueltos algunos cuerpos formando solutoides, algunos de ellos iónicos, otros moleculares; materias como los albuminoides y otras, dispersas hasta el grado coloidal; gránulos visibles al microscopio formando emulsiones o suspensiones. Un conjunto de estos sistemas, existe en la más pequeña porción de materia donde se manifiesten fenómenos vitales.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. Stephane Leduc, *Theorie Physico-chimique de la vie*, página 25. Paris, 1910.

2. von Zeipel *Etoiles et molecules*, Rivista «Scientia», vol. XXI, Milano, Enero 1917.

3. Wo Ostwald, *Grundriss der Kolloidchemie*. Dresden, 1909.

4. Sv. Arrhenius, *Zeits f. phys. Chem*, t. I, p. 631, 1887; t. II, p. 491, 1888.

5. M. J. Walker, *Les teories des solutions*. Discurso presidencial de la Sección de Química de la «British Association for the Advancement of Science». Congreso de Portsmouth, 1911.

6. Clausius, *Poggend. Ann*, t. CI, p. 338, año 1857.

7. Helmoltz, *Wied. Annal*, t. XI, p. 737, año 1880.

8. J. Perrin, *Les atomes*, pág. 69, p. 134, p. 151. Paris, 1914.

9. M. Traube, *Gesammeltz Abhandlungen*. Berlin, 1899.

10. H. C. Sones, *L' influence de la presion osmotique sur le developpement de la Chimie-phisique*. Conferencia publicada por The Plant World, t. XVI, pág. 93. Marzo 1913.

11. R. Luna Nogueras, *La presión osmótica y las disoluciones ideales*. «Revista de la Real Academia de Ciencias». Madrid, Octubre y Noviembre 1915.

12. R. Aldea Lafuente, *Sobre algunas anomalias crioscópicas*. Tesis doctoral. Zaragoza, 1912.

13. Fred Swarts, *Cours de Chimie inorganique*, pág. 192. París, 1908.

14. Freundlich, *Kapillardchemie*. Leipzig, 1909.

15. Ostwald, *Die Neuere Entwicklung der Kolloidchemie*. Dresden, 1912.

16. Weimarn, *Grundzüge der Dispersoid Chemie*. Dresden, 1911.

17. R. H. Bradbury, *Journ. of the Franklin Institute*. vol. 175. pág. 319. Septiembre 1913.

18. F. Burton, *The phisical properties of colloidal solutions*. Londón, 1916, pág. 10.

19. Barus y Schneider, *Zeit. Phys. Chem*, t. VIII, pág. 278, año 1891.

20. Lobry de Bruyn y Wolf, *Rec. Trav. P. Bas*, p. 155, t. XXIII, año 1904.

21. F. Selmi, *Principii elementari di chimica minerale*, 2.ª edición. Turin, 1857.

22. Graham, *Phil. Trans.*, p. 138, 1861.

23. Paterno, *Gazz. ch. ital.*, t. II, p. 537, 1910.

24. Weimarn, *Jour. Soc. phys. ch. russe*, t. XXXVIII, p. 263, 1906.

25. Zsigmondy, *Kolloidchemie*, 1912.

26. Faraday, *Proceedings Roy. Inst.*, t. II, p. 310, 1854.

27. Bredig, *Anorganiche Fermente*. Leipzig, 1901.

28. Bredig, *Zeitschrift fur augewandte Chemie*, p. 951, año 1898.

29. *Studien zur Lehre von den Kolloidalen Losungen*. Upsala, 1907.

30. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, vol. 38, página 3.616, año 1905.

31. Graham, *Proceedings of the Royal Society* (Londón), t. XIII, p. 335, 1863-64.

32. A. Muller, *Allgemeine Chemie der Kolloide*. Leipzig, 1907.

33. Svedberg, *Herstellung Kolloider Lösungen*.

34. Linder y Picton, *Journ. Chem. Soc. London*, vol. 61, 67, 71.

35. Paal y Zahn, *Chem. Ber*, t. XLII, p. 277 y 291, año 1909.

36. Biltz, *Ber. der deuts. Chem. Gese*, t. III, V, IV, 1902, p. 4.431.

37. *Philosophical Magazine*, t. XXXII, p. 37, «American Journal of Sciences». Julio-Agosto 1889.

38. *Pharmazeotizeski Journal*, p. 92, año 1916.

39. Bordier y Roy, *Comptes Rendus, de l'Academie des Sciences de Paris*, 13 Noviembre 1916.

40. Spiro, *Beitrage z. chem. Physiol. u. Pathol.*, t. V, p. 276, 1904.

41. Dauwe, *Chem C. Bl.*, t. II, p. 148, 1905.

42. Graham, *Memoire sur la diffusion moleculaire*. Trad. del inglés por Thoures. *Annales de phys. et chim.* 3.ª serie, t. LXV, p. 129. Paris, 1863.

43. Herzog, *Biochemie Zeitschr.*, 172, 1908.

44. Svante Arrhenius, *Les suspensions et les phenomenes d' adsorcion*. Conferencia en la Sorbonne, 9 Marzo 1911.

45. Pfeffer, *Osmotiche Untersuchungen*. Leipzig, 1877.

46. Tammann, *Zeits. Phys. Chem.*, t. II, p. 42, 1887.

47. *Journ. Soc. phys. chim. Russe*, 7, 19, 1891.

48. Biltz, *Chem. Ztung.*, 29, p. 325, 1905.

49. Donnan, *Philosophical Magazine*, t. I, p. 647, 1901.

50. Garnett, *Phil. Trans.*, 205 A, p. 237, 1906.

51. G. W. La Perla, *Revue gen. Chim. pure appl.*, p. 348, 1909.

52. Kourilof, *Journ. Soc. phys. chim. Russe*, t. XXXVIII.

53. Bertrand y Thomas, *Guide pour les manipulations de Chimie biologique*, p. 231. Paris, 1913.

54. Pasteur, *Revue Scientifique*. Paris 5 Enero 1894.

55. Wo. Pauli, *Kolloidchemische Studien am Eiweiss*. Dresden, 1908.

56. *Les Colloides leur role physiologique*, Journal de Chimie medicale, n.º 1, p. 16. París, 1914.

57. Bechhold, *Die Kolloide in Biologie und Medezin*. Dresden, 1911.

58. *Chimie colloidale et Médicine*. Fascículo especial de la *Zeitschrift fur Chemie und Industrie der Kolloide*. Diciembre 1909.

59. Bousquet el H. Roger, *Les metaux colloidaux electriques en Therapeutique*. Monographies Chiniques, p. 30. París, Junio 1910.

60. G. Stodel, *Les colloides en biologie et en Therapeutique*. París, 1908.

61. Roger Glenard, *Gacette des eaux*. Noviembre 1911.

62. Konig, *Landw. Versuchstation*. B. 75.

63. C. Doelter, *Das Radium und die Farben*. Dresden, 1910.

64. *Kolloidchemie und mineralogie*, «Zeitschrift fur Chemie und Industrie der Kolloide», vol. 4, p. 275, 1909.

65. Dr. Kurt Arndt, *Bedeutung der Kolloide fur die Technik*. Dresden, 1911, 2.º edic.

66. W. Michaelis, *Der Erhartungs-prozess der Kalkhaltigen hydraulischen Bindemittel*. Dresden, 1909.

67. Lappo-Danilevsky, *Many papers on kinetical theory*. Zeit. Chem. Koll.

68. Dutoit, *Societi Vaudoise des Sciences naturelles*, «C. R. in Archives de Geneve», 15 Diciembre 1912.

69. V. García de la Cruz, *Leyes mecánicas de los líquidos turbios y de los gases nebulosos*, p. 5. Barcelona, 1893.

70. Perrin, *Les preuves de la realité moleculaire*. Paris, 1913.

71. J. Perrin, *Comptes Rendus de la Acad. de Sciences de Paris*, 147, p. 530 y 594, 1908. *Ann. chim. phys.*, 8-18, 1909. *Bulletin de Soc. Fr. Phys.*, 3, p. 155, año 1909.

CAPÍTULO III

COMPONENTES DE LA MATERIA VIVA

Para interpretar bien un fenómeno, es condición precisa, el conocer de la manera más exacta posible, el medio en que se realiza. Para desentrañar el problema de la vida, todas las ciencias aplican sus medios de investigación más perfectos; pero entre todas ocupa la Bioquímica el lugar preeminente, porque los fenómenos que la vida provoca en los seres vivos, son en primer término fenómenos químicos. El estudio químico de los componentes de la materia viva, es pues el primer punto a estudiar; el estudio de la vida orgánica, tiene como primer capítulo el análisis químico de la materia viva, del que se deducen, las condiciones de medio en que los procesos vitales tienen su asiento.

La materia viva, es una asociación físico-química de substancias recíprocamente activas, y habiéndose reconocido que las propiedades físicas, químicas y fisiológicas de la materia, están íntimamente relacionadas con su constitución química, interesa mucho conocer cual sea esta constitución, para los cuerpos que entran a formar parte de los seres vivos.

Cómo se hace el estudio químico de un cuerpo.

Utilizando el análisis químico en todos sus diversos grados, llegaremos a conocer la composición centesimal de las especies químicas que forman parte de la materia viva; en muchos casos, procedimientos químicos o físico-químicos nos dan a conocer para cada especie su constante *peso molecular*, y conocido todo esto, se deduce para cada especie química una representación, que se denomina en notación química, fórmula empírica de un cuerpo.

Pero todo esto no es más que el primer paso que precisa

dar, siempre que se hace el estudio químico de un cuerpo [1]. No basta saber la naturaleza de los átomos que forman un complejo químico cualquiera y las proporciones relativas en peso que de estos entran para formar la molécula; precisa conocer, de que manera estos elementos de construcción molecular están agrupados en cada caso. La constitución de los edificios moleculares, se complica con gran frecuencia en las materias orgánicas, no porque se formen con gran variedad de materiales, pues son pocos en número los elementos químicos que forman los compuestos orgánicos, sino porque es generalmente bastante elevado el número de átomos que forma cada molécula.

Noción de isomería.

Los elementos de construcción, pueden ser idénticos, y resultar construcciones distintas, por la diferente forma en que en cada caso se agrupan, o por el distinto número que de estos elementos entran en cada construcción: con ladrillos iguales se contruyen edificios muy distintos. En los juegos de mosaicos con que se distraen los niños, hay un pequeño número de piezas distintas en forma y color y con ellas pueden hacerse todos los variados dibujos que contiene el catálogo del juego, y muchos otros más. Estos hechos, tienen su representación en la edificación de las moléculas con sus elementos de construcción que son los átomos, dando por resultado la existencia de cuerpos, que mucho se parecen en composición, pero que son distintos, porque tienen distintas propiedades (cuerpos isomeros), y están formados, unas veces por átomos de la misma naturaleza que entran a formar la molécula en cantidades tales, que en un cuerpo son múltiplo de las del otro (polimería), o en la misma proporción, de tal modo que los cuerpos resultan con la misma fórmula émpirica (isomería de compensación) y hasta con las mismas funciones químicas (isomería de posición) y todavía se encuentran muy numerosos casos en los que las moléculas, solamente difieren por la distinta forma o mejor por la distinta simetria con que con relación a un plano, se agrupan los mismos elementos de construcción y en igual número (estereoisomería); por esta pequeña diferencia de constitución, se producen cuerpos que difieren en algunas de sus propiedades.

Para completar el conocimiento químico de los cuerpos, precisa conocer, dentro del cuadro de los actuales conocimientos, la

estructura, el esquema de su molécula; de que manera los átomos que la constituyen se encuentran enlazados, teniendo en cuenta la dinamicidad con que funcionen; que agrupaciones atómicas fundamentales de caracteres bien definidos o grupos funcionales, constituyen la molécula, o de otro modo dicho, cuales y cuantas son las funciones químicas que en cada especie química se encuentran; de que modo los radicales en que la molécula puede fraccionarse, se unen para constituirla, y de todo este trabajo analítico, que de la especie química se hace, desgranando las distintas partes del cuerpo de que la molécula se compone, existe una comprobación, que se realiza, cuando de cualquier origen, se toman fragmentos como los que se obtienen por el análisis de un cuerpo, y se reunen, reconstituyendo el cuerpo cuyo análisis y propiedades conocíamos; esto es hacer por síntesis las especies químicas, engarzando unas con otras, las partes de que suponemos compuesta la molécula. No cabe duda, que la obtención de los compuestos por síntesis, garantiza la exactitud de lo que sobre constitución química de las moléculas conocemos.

Síntesis orgánica.

Se conocen una porción de relaciones entre la constitución molecular de las especies químicas y sus propiedades, unas de orden físico, densidad, sabor, otras de orden físico-químico, como el poder rotatorio, que solo aparece en las moléculas que poseen por lo menos un átomo de carbono asimétrico; de orden químico y tecnológico, como por ejemplo el poder tinctorial que poseen todos los cuerpos *cromógenos*, por contener su molécula, de las agrupaciones atómicas denominadas grupos *cromóforos*; de orden farmacológico, así la introducción de la agrupación atómica, $CO\,OH$. (carboxilo), o la sulfúrica ($SO_3\,H$) en cuerpos determinadamente tóxicos, disminuye o anula la toxicidad, etc., etc.; pero es preciso realizar investigaciones, para deducir las relaciones que existen entre la constitución molecular y las propiedades de orden biológico.

Vamos a hacer el estudio químico analítico de la materia viva, sin referirnos a la naturaleza de la célula o asociación celular que la contenga, supondremos un plasma que posea caracteres comunes con las diversas variedades plásmicas, como si fuera el de células embrionarias del que se derivan después los diferentes tejidos.

Los componentes de la materia viva son el agua, las materias minerales y las materias orgánicas, oxihidrogenadas o nitrogenadas, haciendo de ellos estas grandes agrupaciones, para estudiarlos con algún orden.

AGUA Y MATERIAS MINERALES

El agua, es el único componente esencial de la materia viva; específicamente, puede faltar en la materia viva tal o cual componente sin que por ello dejen de realizarse fenómenos vitales, pero sin la presencia del agua, específicamente, agua, la vida no es posible.

Hipócrates y Aristóteles repiten en sus obras, que «el agua es el alimento de todos los cuerpos, sin exceptuar alguno». El P. Feyjoó, refiriéndose a una experiencia de Helmancio, confirma la opinión de que el agua es el principio universal de los seres, es decir, que todos son formados primordialmente de agua, sentencia que en la antigüedad tuvo por primer autor a Thales Milesio y que en el siglo XIV renovó el célebre dominicano inglés Roberto Fhid (el investigador) [2]. Si faltase el agua, todo se desharía en aridez y polvo [3]. En la antigüedad, como en la época actual, siempre se ha tenido el concepto de que el agua es componente esencial de los seres vivos; hoy decimos, el único específicamente esencial, sin el cual la vida no sea posible.

La presencia del agua es imprescindible en la materia viva.

En peso, los seres vivos contienen más del 50 % de agua y algunos vegetales, la poseen en total hasta el 98 %. De los tejidos que forman parte del organismo humano, el adiposo contiene poca agua, el 29,9 %; el óseo, el 48 %; el muscular, el 75,5 por 100 y la substancia gris del cerebro, hasta el 85,8 por 100.

El agua, medio de dispersión.

El agua obra en la materia viva como medio de dispersión, en el que a diferente grado, se encuentran dispersos todos los componentes: en un medio líquido acuoso, tienen lugar todas las transformaciones químicas que son la base de la vida orgánica. Los seres vivos más rudimentarios, viven en el líquido acuoso y de los cambios que se realizan entre su propia substancia y el medio, resultan los fenómenos de nutrición: los seres de organización más complicada, contienen medios líquidos acuosos

(sangre, savia, linfa), en los que las células verifican análogo cambio de materiales.

Cómo se encuentra el agua en la materia viva.

No solo es el agua en la materia viva medio de dispersión, sino que también se encuentra unida por combinación química o por adsorción, con las partículas dispersas de los compuestos orgánicos: se puede pues considerar *agua ambiente*, *agua adsorbida* principalmente por las partículas dispersas de grado coloidal y *agua combinada*, que forma parte en la constitución molecular de algunos cuerpos. Cuando por calentamiento progresivo y bien regulado, se deseca la materia viva, los fenómenos de vida comienzan por refrenarse y hasta se anulan a un grado de desecación determinado. Si por esta desecación, la materia viva no ha perdido mas que una parte de su agua medio ambiente, los fenómenos de vida aparecen en cuanto la materia viviente desecada recupera el agua que perdió, así se observa en ciertos rotíferos, microbios, semillas, etc. Pero si la desecación o la elevación de temperatura, se llevó a tal grado, que la materia viva perdiera el agua que sus micelas tenían adsorbida, sin dar lugar a la descomposición química de los componentes, se realiza tal transformación (coagulación), que después, aun en presencia del agua, los fenómenos vitales no reaparecen. Este es, a juicio nuestro, el mecanismo químico-físico de la esterilización por el calor y creemos que del mismo modo, explica el hecho de que ciertos seres, como los rotíferos, vuelvan o no a la vida, después de una desecación más o menos cuidadosa, así como también vemos en esto, la condición esencial de dispersión hasta el grado coloidal, que ha de presentar la materia viva, pues si por un medio cualquiera, la desecación en este caso, pierde ese estado, los fenómenos vitales no se realizan.

Las moléculas del agua, por su estado de movimiento constante y agitación debida a su energía cinética, chocarán con las partículas en que se dispersan los componentes de la materia viva, y estas partículas se encontrarán en movimiento más o menos sensible, según la masa o el tamaño de cada partícula, y por esta agitación, tienen lugar muchos fenómenos vitales, de lo que se deduce que el agua medio de dispersión, posee un caudal de energía que utilizan muchos fenómenos biológicos. Aparte esto, es claro que la mayor parte de la energía de que disponen

los seres vivos, tienen su origen en las variaciones de energía interna, que se realizan entre los cuerpos que se transforman químicamente en los múltiples procesos bioquímicos.

Iones dispersos en la materia viva.

Practicando la incineración de la materia viva, queda como residuo la ceniza, constituída por las materias minerales, tal cual ellas eran en el ser vivo, o transformadas por la acción del calor y de las reacciones químicas que el calor realiza en el medio en que se producen. La naturaleza y cantidad de estas materias minerales se dosifica en las cenizas, encontrándose que las sales de sodio, principalmente el cloruro, predominan en general, y excepcionalmente, predominan las sales de potasio. Los cationes que formando parte de los compuestos minerales de la materia viva se encuentran, aunque no todos ellos aparecen en cada caso, son los siguientes:

$$Rb^{\cdot}\ K^{\cdot}\ Na^{\cdot}\ Ca^{\cdot\cdot}\ Mg^{\cdot\cdot}\ Mn^{\cdot\cdot}\ Zn^{\cdot\cdot}\ Cu^{\cdot\cdot}\ Fe^{\cdot\cdot\cdot}$$

y los aniones:

$$SO_4\quad CO_3^{\prime\prime}\quad PO_4^{\prime\prime\prime}\ Cl'\ I'\ F'$$

materias éstas, que en forma de sales diversas se encuentran en la materia viva. Además de estos elementos, el silicio, el boro y el arsénico se encuentran en multitud de casos.

Acción de las sales sobre la materia viva.

En el estudio realizado por Loeb sobre el papel de las sales en la conservación de la vida, parte del hecho de que las células de nuestro organismo, sobreviven en una disolución que contenga $Na\ Cl$, $K\ Cl$ y $Ca\ Cl_2$, respectivamente en las proporciones moleculares de 100: 2, 2: 1, 5, proporción en que se encuentran estas mismas sales en el agua del mar, si bien a una concentración, tres veces mayor que la que poseen en nuestro suero sanguíneo [4]. Admite este investigador, como consecuencia de su trabajo sobre este asunto, que las sales ejercen sobre la vida una acción preservadora, curtiendo la membrana superficial de las células y dotándola de una resistencia y de una impermeabilidad relativa, necesaria para la vida de la célula.

Por otra parte, este mismo investigador ha demostrado, que las contracciones rítmicas de los músculos, solo se producen por la acción de electrolitos que modifican las propiedades de los coloides que forman el sarco elemento, por sustitución de unos

cationes a otros a cuya sustitución recíproca, corresponden la contracción o la relajación del órgano.

Entre los componentes iónicos de la materia viva, son los más frecuentes, los de menor peso atómico, es decir, los de mayor calor específico, cualidad esta, que favorece sus transformaciones, formando compuestos solubles.

En los tejidos donde los fenómenos vitales se manifiestan con mucha intensidad, es pequeña la cantidad que proporcionalmente poseen de sales minerales; pero donde la vida se manifiesta lentamente, es en tejidos densos, mineralizados, por la gran cantidad materia mineral que acumulan; el tejido óseo, es tipo de esta materia viva de tan pequeña actividad vital.

Importancia de la materia mineral en los fenómenos vitales.

Estas materias salinas, se encuentran disueltas en la materia viva, formando disoluciones ionizadas a más o menos alto grado; sus partículas, dispersas en el solutoide que forman, originan la presión osmótica de plasmas o de líquidos orgánicos por la cual, muchos fenómenos vitales se realizan; sus iones, con la carga eléctrica que por su valencia les corresponde, disponen de una gran cantidad de energía, y se combinan entre sí o intervienen en otras reacciones bioquímicas. La materia mineral, que hace unos años se suponía que no cumplía en los organismos más fin que el de endurecer algunos tegidos, cumple fines mucho más importantes, interviniendo sus iones como catalizadores en multitud de reacciones bioquímicas. El concepto de los infinitamente pequeños químicos (Bertrand) y los casos de catalisis que van conociéndose en las reacciones bioquímicas, aceleradas por catalizadores que son materia mineral a muy pequeña dosis, indican una importancia cada vez mayor de la materia mineral en presencia, en los fenómenos de vida. Mas adelante, tendremos ocasión de insistir sobre estas ideas.

De las materias minerales que forman parte de la materia viva, admite Loeb[5] que las unas, como por ejemplo PO_4''' SO_4'' $K^{\cdot}$ cumplen una función nutritiva, y otras, como el $Na^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$ desempeñan un importante papel en la actividad celular. Todos los fenómenos que se relacionan con el funcionamiento de los músculos, de los nervios y de las glándulas, se modifican según la cantidad de sales que poseen los medios en los que se encuentran las células y la relación en peso entre los iones alcalinos y

los alcalino térreos: estas ideas de Loeb, de las que se deduce la importancia de los compuestos minerales en los fenómenos vitales, tienen por base investigaciones experimentales sobre las contracciones rítmicas de los músculos. Se interpretan estos hechos admitiendo la formación de compuestos proteico metálicos (Pauli)[6] o bien jabones, sustituyendo el potasio o sodio al calcio o magnesio o viceversa, determinando así la contracción o relajación. Es muy probable que en estos casos, más que combinaciones químicas se formen compuestos de adsorción.

Fundado en un gran número de investigaciones personales que contienen muchísimos análisis de tejidos, de alimentos, de humores, etc., el doctor Gaube afirma[7] que la mineralización de la materia viva, ejerce una influencia decisiva en todas las funciones biológicas y hasta en la especifidad morfológica; estas ideas serán quizá algo exageradas, pero el trabajo de su autor tiene una gran importancia.

Medio de dispersión de la materia viva

La materia orgánica dispersa que constituye la materia viva, no tiene pues el agua como medio de dispersión, sino un líquido acuoso que posee una elevada disociación iónica y de los iones que en ella se encuentran, dominan cuantitativamente los de menor peso atómico, es decir, los de mayor calor específico, lo cual favorece los cambios materiales, porque la mayoría de sus compuestos son solubles. El agua como medio de dispersión, es excepcionalmente apta para realizar la disociación iónica, porque su constante dieléctrica es muy elevada, y según los trabajos de Nernst y Thomson, el poder de disociación iónica de un disolvente, es tanto mayor, cuanto mayor sea aquella constante física.

Clasificación de los compuestos orgánicos

Para dar una idea, bajo el punto de vista químico, de los compuestos orgánicos que entran a formar parte de la materia viva, hay que agruparlos de algún modo, para la exposición metódica de sus caracteres. Se conocen hoy, en números redondos, 150.000 compuestos orgánicos y a pesar de su diversidad, se les separa en Química con arreglo a su estructura, en dos grupos, *acíclicos y cíclicos* entre los que existe verdadera diferenciación, aun cuando por reacciones apropiadas, puede un compuesto acíclico transformarse en cíclico o un compuesto cíclico en acíclico,

siendo esta transformación mucho más facil en el primer sentido (ciclización), que en el segundo.

La estructura de la molécula, es en los compuestos orgánicos acíclicos, en forma de cadena abierta, lineal o arborescente, mientras que en los cíclicos, el encadenamiento de los átomos, por cambio de sus valencias respectivas se verifica de tal modo, que su fórmula es una figura cerrada cíclica, o sea, que su estructura puede representarse por núcleos o cadenas cerradas. Bajo el punto de vista químico, se diferencian perfectamente los compuestos acíclicos de los cíclicos, tanto, que resulta muy justificada esta clasificación. Bajo el punto de vista biológico, Amé Pictet afirma[8] que las propiedades fundamentales de la materia, que son consecuencia de la naturaleza cíclica o lineal del esqueleto molecular, son las que entran en juego en todas las manifestaciones de la vida.

COMPUESTOS OXIHIDROGENADOS

Son compuestos orgánicos acíclicos, de los que forman parte de la materia viva, el grupo de los llamados *hidratos de carbono*, por Schmidt[9] sin más carácter, que el de ser compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno en los que por el análisis se deduce, que el hidrógeno y el oxígeno en estos cuerpos, se encuentran en las cantidades precisas para formar agua. Se incluyen en este grupo, los azúcares, los almidones, las celulosas, las gomas, y bajo un punto de vista puramente nemotécnico, se les puede considerar como carbono unido al agua, lo que justifica el nombre de hidratos de carbono que se da al grupo.

Formación de los hidratos de carbono.

El mecanismo sintético, que se realiza en los tejidos verdes de las plantas por el cual, los materiales minerales del medio ambiente se transforman en compuestos orgánicos, es el origen de los hidratos de carbono. El gas carbónico del aire y el vapor de agua, por la acción de ciertas radiaciones solares y en presencia de la clorofila, reaccionan en los tejidos vegetales, desprendiendo oxígeno y formando metanal (Baeyer y Wurtz)[10] que después se polimeriza originando diversos hidratos de carbono, de la forma $C_6 H_{12} O_6$ ó $C_6 H_{10} O_5$. Según Brown y Moris, el pri-

mer azúcar formado será la sacarosa y de esta se deriva el almidón, y por desdoblamiento la glucosa y levulosa, etc.

Para establecer esta hipótesis se admite, que en las hojas de las plantas se encuentran materias reductoras de función aldehídica entre las cuales aparece el metanal. [11]

No todos los autores están conformes con esta teoría; sin embargo, recientes síntesis realizadas por D. Berthelot y Gaudechon, en las cuales partiendo del gas carbónico y del agua y por la acción de las radiaciones ultravioletas han obtenido metanal, dan a la teoría de Baeyer, un argumento más de orden experimental. [12] Pero sea el que fuere el proceso especial de combinaciones moleculares propias de las síntesis clorofílicas, encontramos en ellas un ejemplo vivo de la transformación de la energía electromagnética transmitida por el éter, en energía química; la formación de compuestos ternarios a partir del gas carbónico y del agua en los vegetales, se realiza con incremento de ese fondo de reserva energética, que se llama energía interna.

Transformación de la energía electromagnética en química.

La función clorofílica, es engendradora de compuestos orgánicos en los seres vivos, pero no es la única que posee este carácter: algas sin clorófila asimilan carbono, Winogradsky ha demostrado el hecho, en bacterias incoloras, y las bacterias púrpuras, realizan también fotosíntesis, utilizando radiaciones infra rojas. Las nitro-bacterias oxidan el amoníaco, transformándole en ácido nítrico y simultáneamente, asimilan en sus protoplasmas carbono, partiendo de los carbonatos.

El hidrato de carbono formado en las hojas, emigra luego de ellas, y los líquidos circulantes del vegetal, lo transportan a otros tejidos; una buena parte se almacena en semillas, raíces, tubérculos, cortezas, etc., de donde los animales les toman para nutrirse, o se aprovechan para la nutrición de las plantas en la primera fase de su evolución, (semillas, tubérculos).

Sobre la constitución de los hidratos de carbono, fué Fittig [13] el primero que estableció una teoría, documentada después y ampliada por Tollens, y más todavía por Fischer. Para dar idea de esta constitución, vamos a suponer dos grados distintos: 1.°, la de los hidratos de carbono más sencillos en los que se admite la existencia de un grupo $C_6 H_{12} O_6$ (monosacáridos o monosas); 2.°, la de los que tienen constitución más complica-

Constitución de los compuestos hidrocarbonados.

da, porque en ellos se encuentran varios grupos sencillos (polisacáridos o poliosas).

Los monosacáridos, tipo de ellos la glucosa de uva, por ejemplo, poseen sus seis átomos de carbono enlazados en forma de cadena lineal, lo cual se comprueba, porque si se hidrogenan con amalgama de sodio, producen los respectivos exoles normales, y si esta hidrogenación es más enérgica (utilizando el IH como hidrogenante), se obtienen derivados iodados del exano normal. Por otra parte, de la acción del cloruro de acetilo o del anhídrido acético, se deduce que contienen cinco grupos hidroxilados, es decir, que son cinco veces alcohol (pentoles). La propiedad que tienen muchos de estos cuerpos de reducir las disoluciones metálicas alcalinas (líquido de Fehling, nitrato de plata amoniacal) dan idea de la existencia de un grupo aldehídico y en otros casos se admite en vez del grupo aldehídico el cetónico, sin que la glucosa pierda sus propiedades reductoras, porque las poseen todos los cuerpos que tengan en su molécula el grupo cetónico, unido a un átomo de carbono en relación con un oxhidrilo.

Monosacáridos

La existencia de las funciones aldehídica o cetónica en los monosacáridos, se comprueba muy bien estudiando entre otras, sus reacciones con la fenilhidracina y aun se llegan a diferenciar unas de otras, según posean una u otra de esas funciones, por medio de la metilfenilhidracina ($NH_2 - CH_3 N. C_6 H_5$), que con los monosacáridos de función cetónica (cetosas), produce oxazonas y con los de función aldehídica (aldosas), hidrazonas.

La constitución química de los monosacáridos, puede pues ser representada por una de estas dos fórmulas:

$$CH_2 OH - CH OH - CH OH - CH OH - CH OH - CHO,$$

para las aldosas;

$$CH_2 OH - CH OH - CH OH - CO - CH OH - CH_2 OH,$$

para las cetosas.

Por la misma época, Van t' Hoff y Le Bel[14] estudian la estructura de los azúcares, haciendo aplicación de la teoría del carbono asimétrico. Basta observar las fórmulas anteriores, para

reconocer, que hay cuatro átomos de carbono en las aldosas y tres en las cetosas, cuyas dinamicidades están saturadas por radicales distintos, es decir, que son átomos de carbono asimétrico. De la teoría planteada por Van t' Hoff y Le Bel se deduce y la experiencia siempre lo ha confirmado, que toda combinación química que presenta un átomo de carbono asimétrico, será activa a la luz polarizada y podrá existir en dos formas isoméricas cuyas propiedades químicas serán iguales, pero diferentes algunas de sus propiedades físicas. Cuando como en el caso de los monosacáridos ocurre, el número de átomos de carbono asimétrico es más de uno, el número de isomeros aumenta, siendo los N teóricamente posibles para un cuerpo que posea n de estos átomos, $N = 2^n$, formando tantos grupos de a dos de poder rotatorio igual, como indica la fórmula $N' = \frac{2^n}{2}$ que sirve para calcular los isomeros estereoquímicos. La teoría deduce en este caso de los monosacáridos un número de cuerpos, mayor que el encontrado en la naturaleza y fué un éxito para ella, el que por síntesis haya obtenido Fischer [15] algunos de estos cuerpos, cuya existencia es posible como consecuencia de la teoría, aunque a ella se opusiera la gran dificultad de que no existen en la naturaleza: resulta pues que el Laboratorio, posee mayor número de monosacáridos que la naturaleza.

El punto de partida para la síntesis de los azúcares fué para Fischer, la oxidación de la glicerina por medio del óxido de plomo y el bromo y para Boutlerow [16], Tollens [17] y Loeb [18] la condensación del metanal por aldolizaciones sucesivas en presencia de los álcalis. Más recientemente D. Berthelot y H. Gaudechon [19] han reproducido *in vitro* la síntesis clorofiliana de los azúcares, sin necesidad de materia viva, por medio de radiaciones ultravioletas, siendo confirmados estos resultados por Stoklasa y Zdobnicky [20].

Los notables estudios sobre la estructura estereoquímica de los azúcares realizados por E. Fischer, tienen por base el de los ácidos y alcoholes que con ellos pueden formarse o de los utilizables en su producción sintética y han dado como resultado, no solo el conocimiento de la estructura molecular de los monosacáridos, sino también el de algunos de los polisacáridos.

Polisacáridos. Los hidratos de carbono desdoblables en dos o más moléculas de monosacáridos son los polisacáridos, y cuando de ellos se conoce bien el peso molecular, fácilmente se deduce el grado de condensación de monosacáridos que fué preciso para producirlos; así, la sacarosa o la lactosa, $C_{12} H_{22} O_{11}$ son disacáridos y resultan formadas por la unión de una molécula de glucosa y otra de fructosa la primera, y por una molécula de glucosa y otra de galactosa la segunda, perdiendo en los dos casos una molécula de agua, por lo cual, para pasar por hidrolisis de estos disacáridos a los monosacáridos que les formaron, fijan una molécula de agua:

$$C_{12} H_{22} O_{11} + H_2 O = C_6 H_{12} O_6 + C_6 H_{12} O_6.$$

La maltosa, que se produce por la acción de distintas diástasas, entre otras por la contenida en el malte (cebada germinada), sobre el almidón, es también un disacárido; la melitosa y la rafinosa se consideran como trisacáridos, formada la primera por la unión de tres moléculas de glucosa con eliminación de dos moléculas de agua, y la segunda por una molécula de glucosa, otra de fructosa y otra de galactosa, también con eliminación de dos moléculas de agua.

A mayor grado de condensación que los que llevamos citados, pero sin saber exactamente cual sea este por no estar bien determinados sus pesos moleculares, se conocen muchos hidratos de carbono que se consideran como polisacáridos, formados por la unión de n moléculas de monosacárido, con pérdida de $n - 1$ moléculas de agua. Como fórmula empírica general de estos cuerpos, se admite la $(C_6 H_{10} O_5)_n$.

Dentro de este grupo de hidratos de carbono, se incluyen los almidones, las dextrinas y el glucógeno, cuerpos que forman en el agua disoluciones coloidales y que tienen todos como carácter general, el de *sacarificarse*, es decir, el de producir monosacáridos, fijando moléculas de agua por las acciones diastásicas, o por los ácidos diluídos:

$$(C_6 H_{10} O_5)_n + n H_2 O = n C_6 H_{12} O_6.$$

Se consideran también como polisacáridos, aun cuando su constitución es menos conocida que la de estos que acabamos

de citar, *las celulosas* que se separan de los vegetales mediante el proceso de fabricación de papel, resultando este producto industrial, en ciertos casos, celulosa prácticamente pura.

Los cuerpos incluídos entre las gomas y mucílagos son hidratos de carbono, considerados como polisacáridos mixtos, derivados de exosas y de pentosas. Las propiedades de estos cuerpos, favorecen poco para aplicar métodos de separación de especies químicas; sin embargo Kiliani ha obtenido por hidrolisis de un gran número de gomas la *arabinosa*, que pertenece, no a la serie $C_6 H_{10} O_5$ sino a la $C_5 H_{10} O_5$, de aquí que aquellas se consideren como polisacáridos mixtos.

Grupo de los sacarocoloides.

Propone Tollens[21] que a todos los hidratos de carbono que no se presentan con formas cristalinas, se les denomine *sacarocoloides* distinguiendo así los azúcares propiamente dichos, de los polisacáridos. Esta denominación no debe admitirse, por que significa particularizar a estos cuerpos el estado coloidal que todos los cuerpos son susceptibles de adoptar, resultando una impropiedad manifiesta, toda división fundada en ese carácter. El carácter de no presentarse con forma cristalina con que Tollens establece este grupo, no tiene valor diferencial alguno, pues la estructura cristalina llegarán a adoptarla cuando en ciertas condiciones se separen de su medio de dispersión o se varíe éste.

Materias grasas

Las grasas naturales que en los organismos se encuentran, son esteres formados por el triol, glicerina y por ácidos que pueden ser líquido y volátil como el butírico, o líquido y fijo como el oléico, o sólidos como el esteárico.

La constitución química de estos cuerpos, es muy sencilla: cada molécula de glicerina, forma el ester neutro con tres moléculas de ácido monobásico, resultando así un gran número de grasas con relación al pequeño número de ácidos que las forman:

$$\begin{array}{l} C_{17} H_{35} CO.O - CH_2 \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ C_{17} H_{35} CO.O - CH \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ C_{17} H_{35} CO.O - CH_2 \end{array} \qquad \begin{array}{l} C_{15} H_{31} CO.O - CH_2 \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ C_{15} H_{31} CO.O - CH \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ C_{15} H_{31} CO.O - CH_2 \end{array}$$

triestearína o triestearato de glicerina. — tripalmitina.

Berthelot en 1860 emitió la idea, de que entre las grasas naturales abundan los gliceridos mixtos, en los cuales la molécula de glicerina, está eterificada por moléculas de ácidos diferentes; esta hipótesis, se ha confirmado principalmente por los trabajos de Heise que encontró entre otros glicéridos mixtos, la oleodiestearina, la palmitodiestearina y la estearodipalmitina.

Las materias grasas, se presentan en estado sólido o líquido: son insolubles en el agua, pudiendo formar con este medio de dispersión, suspensiones o emulsiones, encontrándose en algunos líquidos orgánicos, como en la sangre, en el grado de dispersión que caracteriza el estado coloidal, formando hemokonías visibles con ayuda del ultramicroscopio, y en cantidad variable con las fases de nutrición del organismo.

Origen de las grasas.

Aun cuando no está completamente en claro cual sea el origen o la formación de las materias grasas en los organismos, con grandes visos de certeza puede afirmarse, que las que no proceden por ingestión de alimentos, en su mayor parte se derivan de los hidratos de carbono, disminuyendo la cantidad de oxígeno, por procesos químicos que no son conocidos. El proceso de reducción por el cual los hidratos de carbono se convierten en grasas, se sigue, apreciando según el concepto de Pflüger el valor de la relación $\frac{CO_2}{O_2}$ entre el gas carbónico producido en la combustión y el oxígeno necesario para que se realice (cociente respiratorio): el valor de este cociente es 1. en el caso de los hidratos de carbono, Gerber[22] estudió las variaciones de este cociente en varias semillas oleosas, confirmando que la cantidad de hidrato de carbono (manita en el caso de la aceituna, Luca) disminuye a medida que la de grasa aumenta. Hanriot realizó análogas observaciones sobre animales, y como consecuencia de ellas afirma, que la reducción intraorgánica de la glucosa, produce grasa y desprende gas carbónico.

Reacciones inversas a las productoras de materia grasa en los procesos vitales, tienen también lugar, en los organismos, y por procesos químicos, que como en el caso anterior no son conocidos, las materias grasas producen por oxidación hidratos de

carbono, por ejemplo la triestearina forma glucógeno con desprendimiento de carbónico y de agua.

Las grasas se forman también en los organismos inferiores, a expensas de las materias protéicas, y en los organismos superiores, según Nägeli y Loew ocurre lo mismo, aunque esto último, necesita mejor comprobación experimental.

Las materias grasas, por poseer la función éter sal, tienen la propiedad de descomponerse por la acción del agua, separándose la glicerina de los ácidos grasos: Saponificación.

$$\begin{array}{l} C_{15}H_{31}CO.O \\ C_{17}H_{35}CO.O \\ C_{17}H_{35}CO.O \end{array} \begin{array}{l} CH_2 \\ | \\ CH \\ | \\ CH_2 \end{array} \begin{array}{l} HO \\ \\ + HO \\ \\ HO \end{array} \begin{array}{l} H \\ \\ H = \\ \\ H \end{array} \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CH\ OH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + \begin{array}{l} C_{15}H_{31}COOH \\ \\ C_{17}H_{35}CO.OH. \\ \\ C_{17}H_{35}CO.OH. \end{array}$$

palmitodiestearina.

Esta reacción, que es una verdadera hidrólisis, se denomina saponificación, tiene como catalizadores los álcalis, los ácidos y algunas encimas, pero nunca se realiza en ausencia de agua.

Cuando se emplean como catalizadores los hidróxidos metálicos, o los ácidos, se opera a temperatura más o menos elevada: la industria utiliza actualmente como catalizador el reactivo Twitchell (ácidos bencenos sulfónicos o naftaleno sulfónicos) y así la reacción tiene lugar en 24 horas, operando a la temperatura de ebullición.

Algunas encimas, realizan análoga acción catalizadora a la temperatura ordinaria, debida según Lewkowitsch [23] a su poder emulsionante: entre estas encimas, se utiliza preferentemente la *lipasa*, extraída de las semillas del ricino, y la catalisis es activada, por la presencia de una pequeña cantidad de sulfato manganoso. Otras semillas contienen encimas análogas como ésta, a los fermentos lipolíticos y su actividad como en el caso de la pepsina, aumenta en presencia de un ácido.

El fenómeno de la saponificación, consiste en la acción de los iones oxhidrilo sobre la molécula de éter, pues determinaciones de velocidad de saponificación [24], demuestran que este valor, es proporcional a la cantidad de iones OH libres, de donde se

deduce que es equivalente determinar en las bases su poder de saponificación o su grado de ionización.

COMPUESTOS NITROGENADOS

Importancia de los compuestos albuminoideos en bioquímica.

Formando parte de los organismos de todos los seres vivos, se encuentran unos cuerpos de constitución química muy compleja, denominados albuminoides o compuestos albuminoideos. Estos compuestos, si no son el factor material esencial de la vida, son la porción material que más se transforma en sus manifestaciones; poseen las propiedades más características de la materia viva, porque construyen sus moléculas con las del medio en que se forman, y reaccionan, por la acción de los más pequeños impulsos físico-químicos o mecánicos. Durante la vida, se encuentran en estado de continua transformación, pues su estabilidad química es incompatible con la vida, y solo se interrumpe, cuando el individuo muere, alcanzándose entonces para la materia albuminoidea un estado de equilibrio químico, una estabilización de la molécula albuminoidea, que persiste por un espacio de tiempo más o menos grande.

Todo plasma en actividad vital, posee materias albuminoideas, que también se llaman materias proteicas; de estas materias, no se conoce lo bastante para poder darles una definición química concreta, pero se caracterizan por reacciones generales del mismo tipo, lo cual significa una analogía de constitución.

El estudio de los compuestos albuminoideos, comenzó, como es natural, por investigaciones de orden puramente químico analítico, reconociendo cualitativamente a los albuminoides, como compuestos en los que el carbono, el oxígeno, el hidrógeno y el nitrógeno, entraban como componentes fundamentales, formando parte también de sus moléculas, con mucha frecuencia, el azufre, y algunas veces otros elementos como el fósforo, el hierro, etc.

Composición centesimal de los albuminoides.

Cuantitativamente considerada, la composición de los compuestos albuminoideos dilucida por el análisis, puede referirse centesimalmente a los promedios siguientes:

Carbono.....	50	a	55	por 100.
Hidrógeno.....	6,5	a	7,3	»
Nitrógeno.....	15	a	19	»
Oxígeno.....	19	a	24	»
Azufre.....	0,3	a	2,5	»

Conocida la composición centesimal, para llegar a la fórmula empírica, precisa conocer el peso molecular, pero la determinación de este número es difícil y de resultados muy inseguros, en el caso que nos ocupa. Los métodos físicos de determinación de esta constante, que serían unos buenos medios de comprobación, no pueden aplicarse en los métodos de trabajo que hoy se usan, porque como las disoluciones acuosas de albuminoides son coloidales, las variaciones crioscópicas, ebulloscópicas, etc., son tan pequeñas, que resulta dificilísimo medirlas; por otra parte, los métodos químicos que con este objeto se han aplicado hasta hoy, son bastante inseguros.

Magnitud de la molécula albuminoidea.

Sin describir detalle alguno de los diversos métodos que para determinar pesos moleculares de albuminoides se han seguido, citaremos las determinaciones de Lieberkühn, que refiriéndose a ovoalbúmina y suponiendo que en su molécula gramo solo entraban 32 gramos de azufre (átomo gramo, cantidad mínima), dedujo para su peso molecular, el número 1612 que debe considerarse como un mínimo. Operando también con ovoalbúmina, A. Gautier deduce el peso molecular estudiando las combinaciones monosódicas y bisódicas que este albuminoide forma, funcionando como ácido bibásico débil y encuentra el número 5800: este resultado es análogo al encontrado por Diakonow (5944), Schwarzenbach (6000) y Schützemberger (5739).

De la teoría cinética de Riecke[25] resulta que el coeficiente de difusión está en razón inversa del peso molecular, y Herzog[26], determinando coeficientes de difusión de diferentes albúminas, encuentra para peso molecular de la ovoalbúmina, el número 17000 y para el de ovomucoide, 30000.

Para tener idea de la enorme masa de las moléculas albuminoideas, puede calcularse su peso molecular absoluto, admitiendo para la ovoalbúmina, por ejemplo, el número 6000 como peso molecular relativo. Siendo N constante de Avogadro

(número real de moléculas, contenido en la molécula gramo) $N = 68,5 \times 10^{22}$, resulta la masa de la molécula de hidrógeno, $2,94 \times 10^{-21}$ miligramos, o sea la masa del átomo de hidrógeno, $1,47 \times 10^{-21}$ miligramos; la masa de la molécula de ovoalbúmina supuesta, será pués:

$$1,47 \times 10^{-21} \times 6000 = 8820 \times 10^{-21} \text{ miligramos.}$$

o sea, que en un miligramo de ovoalbúmina, existen 113×10^{15} moléculas, es decir, 113 billones de moléculas.

Por el número que de este cálculo resulta, se deduce la enorme masa de las moléculas albuminoideas, a pesar de haber supuesto un peso molecular relativo, de los más pequeños, pues a otras muchas moléculas albuminoideas, se atribuyen pesos moleculares mayores que el supuesto.

Fórmulas empíricas de albuminoides.

Tomando para la ovoalbúmina, el peso molecular 5739 (Gautier) y conocido su análisis centesimal, se calcula la fórmula empírica de este compuesto y resulta ser:

$$C_{250}\, H_{409}\, O_{67}\, O_{81}\, S_5.$$

Así conocemos la fórmula empírica de varios albuminoides, pero esto es poco saber, aun bajo el punto de vista químico; es preciso conocer la estructura que pueda atribuirse a la molécula considerada, dentro del cuadro de los conocimientos actuales, es decir, que necesitamos conocer la constitución de la molécula albuminoidea, deducida del estudio de los productos de la degradación de estas moleculas, y comprobar este trabajo, y completar el estudio, reconstituyendo las moléculas primitivas, por la unión de las especies químicas obtenidas en las operaciones analíticas. De aquí se deduce que para llegar al conocimiento de la constitución química de las moléculas albuminoideas, han de seguirse dos caminos diferentes el analítico y el sintético, que aun cuando son distintos en sus métodos, mutuamente se completan y los dos conducen al mismo fin.

Constitución de la molécula albuminoidea.

Los trabajos realizados por métodos analíticos, se dirigen a descomponer la molécula compleja del compuesto albuminoideo en otras más sencillas, sin que por causa de la reacción que provoque el desdoblamiento, resulten como producto de la reacción, agrupaciones moleculares que no guarden relación alguna

Métodos analíticos.

con la molécula de que partimos; es decir, que debe operarse de modo, que resulten separados los radicales que constituyen la molécula que se analiza, conservando el carácter químico que poseían en la molécula primitiva. Esto significa, que la acción que provoque el desdoblamiento, habrá de ser de la intensidad conveniente para que la molécula fraccionada no sufra por ello una transformación tan profunda, que el carácter químico de las fracciones obtenidas, sea distinto del que poseían en la molécula sobre que se opera.

Disgregación de la molécula albuminoidea.

Para realizar estos trabajos analíticos, se elige como agente productor de la disgregación de la molécula albuminoidea *la hidrolisis*, haciendo actuar sobre el albuminoide, la acción hidratante de los ácidos, de los álcalis o de diastasas hidrolizantes, que obran lenta y progresivamente, disociando el compuesto albuminoideo en grandes fragmentos, más sencillos que la molécula primitiva. De este modo se simplifica la molécula albuminoidea, produciéndosen albumosas y peptonas, que son moléculas más sencillas que las de que se partió y que conservan el carácter primitivo: sometidas a su vez estas moléculas a la acción hidrolítica persistentemente, se desdoblan en otras moléculas que ya no poseen carácter albuminoideo, *los amino ácidos* que representan el límite de disociación de la molécula albuminoidea.

Por la acción hidrolizante de los hidróxidos en disoluciones diluídas, llegan a obtenerse, partiendo de diversos albuminoides, las proteínas (Mülder), consideradas como compuestos albuminoideos fundamentales. Estas proteínas se reconocen como polimorfas, siendo distintas según sea la materia albuminoidea de que se parte, no existiendo actualmente certeza, sobre la unicidad de ninguna proteína, sino que se las puede considerar como mezclas complejas de las proteínas verdaderas (Abderhalden).

Amino ácidos.

Cuando los citados medios analíticos persisten en su acción y esta por consecuencia resulta más intensa, se obtiene en todos los casos, ya se emplee como agente de hidrolización el hidróxido de bario (Schützemberger), o los ácidos clorhídrico o sulfúrico (Fischer) o el ácido fluorhídrico (Hugounenq) o encimas hidrolizantes, la escisión hidrolítica de las proteínas, que se transforman pasando por albumosas y peptonas, es en el sentido

de producir en definitiva los amino ácidos, cuerpos en los cuales la agrupación amina, está unida al carbono directamente unido al grupo carboxilo:

$$NH_2 \quad CH_2 \\ \quad\quad | \\ \quad\quad COOH$$

De estos hechos experimentales se deduce, que los elementos de construcción que forman el edificio proteico, poseen una función amina y una función ácido. En la mayoría de los casos, la hidrolisis de los compuestos albuminoideos, produce una mezcla muy compleja de amino ácidos, cuya separación presenta muchas dificultades, pero que puede realizarse por el método de los éteres (Fischer) que consiste en fraccionar a baja presión los esteres de los amino ácidos. No tiene interés el detallar aquí este interesante método analítico, que dió a conocer Fischer en el Congreso de Karsbad y que después describió minuciosamente[27], pero si haremos constar, que gracias a estos métodos, se ha llegado a la consecuencia importante, de que las proteinas, con muy pocas excepciones, conducen cualitativamente por escision hidrolítica, a los mismos amino ácidos, diferenciandose entre sí, o por la proporción de amino ácidos, o por el modo de asociarse estos.

Diferentes tipos de amino ácidos.

Entre los amino ácidos que se obtienen, hay algunos, como la glicocola la leucina, la isoleucina (Ehrlich), serina, ácidos aspárticos, glutámico, α amino oxisucinico, α amino valeriánico, etc., de estructura acrelica; otros, como la tirosina, fenil alanina, etc., que contienen el núcleo bencenico; en otros, el nitrógeno forma parte del núcleo (heterocíclicos) como la prolina (grupo pirrólico), o el triptófano o ácido indolaminopropiónico (nucleo indol), etc. Por otra parte, entre los ácidos aminados, los hay que como la glicocola, alanina, leucina, fenilalanina, etc., son monobásicos y monoaminados; otros, como los ácidos aspárticos y glutámico son bibásicos y monoaminados, o como la lisina y arginina, son biaminados: algunas como la tirosina, son ácidos aminados hidroxilados, etc., etc., es decir, que existe entre los amino ácidos, una gran variedad de constitución.

He aquí algunos ejemplos o tipos:

$NH_2\,CH_2 - COOH.$ glicocola

$CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH$ alanina

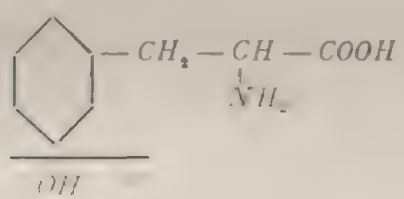
$CH_3 - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH$ ac. α amino butírico.

$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} > CH - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}\ COOH$ Leucina.

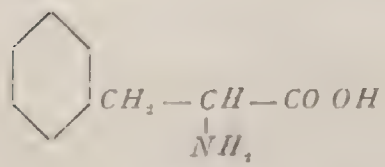
$CO\,OH - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH.$ ac. aspártico.

$NH = \underset{\underset{NH_2}{|}}{C} - NH - CH_2 - CH_2 - CH_2 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH$ arginina.

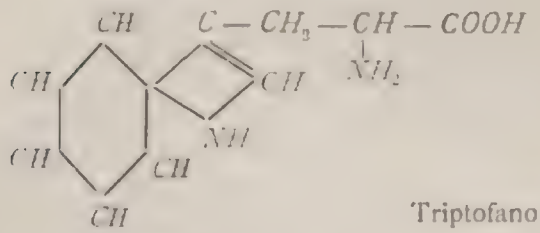
que por hidrolisis produce urea.



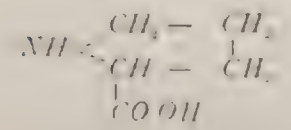
fenil alanina.



Tirosina.



Triptofano.



prolina.

La complejidad de la molécula albuminoidea de que se parte, puede comprenderse, por la variedad de amino ácidos que se obtienen por su hidrólisis. A la formación de las proteínas, contribuyen 20 amino ácidos, luego aun suponiendo que estos sean los mismos, se podrán obtener un gran número de proteínas isomeras.

Los amino ácidos que en el desdoblamiento de los albuminoides se obtienen, son, excepto la glicocola, ópticamente activos, por lo cual hay que considerar en ellos su estructura esteoquímica, que en la constitución de la molécula albuminoidea, debe jugar importante papel por ser los albuminoides materias activas a la luz polarizada (generalmente levogiros): según sea el procedimiento de desdoblamiento que se emplee, varía el sentido de la actividad óptica en los amino ácidos obtenidos, por lo cual es difícil reconocer, la naturaleza del carbono activo, de la molécula albuminoidea. Los trabajos del Profesor de Riga M. Walden, se aplican para estudiar las causas de estas variaciones, fenómeno que se denomina «inversión de Walden».

Separación de los amino ácidos.

Para llegar a conocer la molécula albuminoidea, precisa conocer, no solamente que amino ácidos se obtienen por su hidrólisis, sino también, en qué cantidad se encuentra cada uno de los formados como resultado de la hidrolización. Pero los métodos analíticos cuantitativos de determinación de amino ácidos, no son suficientemente seguros para determinar con certeza, que cantidad de los productos de degradación, están contenidos en la molécula albuminoidea de que se partió. Para muchos amino ácidos, no hay procedimiento de valoracion, y con el método de Fischer[27], no se recupera más que del 50 al 70 por ciento del producto sometido al método analítico.

Los compuestos albuminoideos, producen series de diferentes amino ácidos, en número y calidad diferente para cada caso: muy pocas veces, por tener el albuminoide una constitución relativamente sencilla, se presentan los productos de su hidrólisis, constituidos casi exclusivamente por un solo amino ácido, como ocurre en el caso de la salmina o de la clupeína, en que se encuentra hasta el 8.4 por 100 de arginina. En la mayoría de los casos, la caracterización cualitativa y cuantitativa de los amino

ácidos obtenidos en la escisión hidrolítica de la molécula albuminoidea, es problema todavía irresoluble.

A las dificultades indicadas, se suma la muy importante, de que solo en contados casos puede disponerse de albuminoides bien definidos, pues la obtención de estos compuestos en estado de pureza, no ofrece en muchos casos las garantías necesarias.

Los amino ácidos en fisiología y en biología.

Aparte el interés que bajo el punto de vista químico presenta el conocimiento de la estructura de la molécula de los compuestos albuminoideos, en Fisiología, este conocimiento tiene gran importancia porque las transformaciones y los desdoblamientos, de los albuminoides, constituyen, no por completo, pero sí en su mayor parte, el origen de las variaciones de materia y de energía productoras de la actividad funcional de los organismos vivos. En Biología, es de gran transcendencia el hecho de que los albuminoides contengan los mismos amino ácidos. La célula viva, no emplea directamente los albuminoides que contiene, sino que toda modificación de éstos, va siempre precedida de una degradación, que a veces llega hasta los amino ácidos; la aparición de los amino ácidos durante la digestión y el que toda célula para sus cambios naturales degrade sus albuminoides hasta los amino ácidos, «conduce a plantear sobre bases completamente nuevas, multitud de problemas referentes al metabolismo celular[28]».

Esta degradación de la molécula albuminoidea producida en los organismos vivos por diástasas hidrolizantes, como la pepsina, tripsina, etc., va seguida de otras en las cuales los polipéptidos se hidratan, simplificando su molécula por acciones diastásicas, y hasta cuando se llega a los compuestos más sencillos, a los amino ácidos, sufren estos la disociacion, por la acción de diastasas desaminantes. Los fermentos digestivos de los organismos, no desdoblan todos los polipéptidos (Abderhalden), de lo que resulta una gran complejidad en los productos de la hidrólisis de los albuminoides.

Del estudio de la degradación de los amino ácidos, se han deducido consecuencias tan importantes como las de aclarar, por las investigaciones de Knopp, Empden y Neubeg, algunas relaciones entre los azúcares y polisacáridos y las materias albuminoideas; al ácido pirúvico, se llega partiendo de la *d.* glucosa

y también, eliminando del amino ácido, alanina, el grupo NH_2 por oxidación, con lo cual se introduce en la molécula el grupo cetónico, y se desprende amoniaco:

$$CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{C}H - COOH + O = CH_3 - CO - COOH + NH_3$$

resultando así que las escalas de degradacion de dos combinaciones tan distintas como la *d.* glucosa y la molécula albuminoidea que produce la alamina, llegan a un término común, el ácido pirúvico.

Métodos sintéticos.

Los trabajos analíticos que en líneas generales quedan bosquejados, se completan para establecer el estado actual de nuestros conocimientos sobre la constitución de los compuestos albuminoideos, con los ensayos de síntesis que se han realizado. No vamos a describir, los trabajos realizados en este sentido por Henninger y Holmister (1878) que partiendo de las peptonas, obtuvieron productos análogos a los albuminoides mas complejos; ni los de Grimaux que obtuvo (1881-1884) por fusión de la asparraguina y la urea, el primer compuesto sintético que daba la reacción del biuret; ni los de Schutzemberger (1861); ni detallamos los célebres trabajos de Curtius, sobre la formación por síntesis de cuerpos de cadenas glicínicas, en los que obtuvo toda una serie de amino ácidos benzoilados que daban la reacción del biuret, ni la generalizacion del método de los ácidos bibásicos hecha por Pringsheim y Darmstaedter, ni las interesantes investigaciones de Pickering, de Libienfeld, de Schiff, etc., etc. Nos limitaremos a dar una idea general de los trabajos de Fischer y Curtius, dirigidos a encontrar métodos por medio de los cuales, puedan unirse diferentes amino ácidos, que parecen ser los cuerpos que forman, la parte esencialmente activa de la molécula albuminoidea.

Síntesis de los amino ácidos.

Para dar idea de que son completas, las síntesis que vamos a indicar, comenzamos por la obtención por síntesis de los amino ácidos. Entre otros, se practica a este fin el método de Stecker que parte de los aldehidos o de las ketonas, que tratados por metano nitrilo, producen cuerpos de función doble, alcohol secundario, nitrilo (cianhidrinas), que tratados por amoniaco, pro-

ducen aminonitrilos, que por la acción del ácido clorhídrico, en presencia del agua, se transforman en amino ácidos.

$$CH_3 - CHO \xrightarrow{HCN} CH_3 - CHOH - CN \xrightarrow{NH_3}$$

$$CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - CN \xrightarrow{HCl} CH_3 - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH.$$

La síntesis de los ácidos diamínicos, es mucho más difícil de practicar, y rigurosamente hablando, no existe método general; sin embargo, Fischer ha obtenido varios, tomando como punto de partida, las investigaciones de Gabriel, sobre la obtención de aminas primarias.

Una vez conocida la síntesis de los amino ácidos, el paso más importante dado por Fischer, en sus ensayos de síntesis de los compuestos albuminoideos, ha sido el de plantear métodos generales, por los cuales se construyen sintéticamente diversos cuerpos que denomina *péptidos*, formados por unión de varios amino ácidos, realizándose el encadenamiento de estas moléculas, sustituyendo parcialmente el hidrógeno del grupo amidógeno NH_2 por radicales ácidos pertenecientes a otros amino ácidos con pérdida de agua. Siendo $NH_2 R - COOH$ un amino ácido, la fórmula general de los péptidos será:

$$NH_2 R - CO - NH - R' - CO - NH - R'' - CO - \ldots\ldots$$

A los péptidos así obtenidos, se les designa con el nombre de *polipéptidos* y los clasifica Fischer en *dipéptidos*, *tripéptidos*, *tetrapéptidos*, etc., según se hayan formado por la unión de dos, de tres, de cuatro, etc., moléculas de amino ácidos. Estas síntesis, presentan en la práctica grandes dificultades y precisan artificios especiales para detener las reacciones en el punto preciso que se desee, porque la presencia de los grupos NH_2 origina el que las asociaciones, vayan más lejos de lo que se quiere. Polipéptidos

Fischer parte de los esteres correspondientes a los amino ácidos (que pueden obtenerse haciendo pasar corriente de gas clorhídrico, sobre la disolución de amino ácidos en alcohol absoluto), o de los cloruros de ácidos, porque en esta forma es el compuesto más estable, habiendo menos probabilidad de que se

realice la separación de los radicales aminados. Así como la degradación de la molécula albuminoidea, en albumosas y peptonas, y por último en amino ácidos se practica por hidratación, la unión de los grupos amidógeno NH'_2 y carbóxilo $COOH'$, se practica por deshidratación, siguiendo el mecanismo ideado por Curtius.

Síntesis de los polipéptidos.

Refiriéndose en los medios de formación de polipéptidos al caso más sencillo, o sea a la formación del dipéptido, glicilglicina, se opera, tratando la glicocola sucesivamente por el cloruro de cloracetilo y por el amoníaco:

$$\underset{\text{glicocola}}{NH_2 - CH_2 - CO\,OH} \xrightarrow{Cl\,CH_2\,CO\,Cl}$$

$$\longrightarrow Cl\,CH_2 - CO - NH - CH_2\,CO\,OH \xrightarrow{2NH_3}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{glicilglicina.}}{NH_2 - CH_2 - CO - NH - CH_2 - CO\,OH}$$

o también, partiendo de los esteres:

$$2\,\underset{\text{éter sal de glicocola}}{NH_2 - CH_2 - CO\,OC_2H_5} \xrightarrow{\text{por la acción del calor}}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{dicetopiperacina o anhidrido de glicocola}}{NH < \begin{matrix} CO - CH \\ CH_2 - CO \end{matrix} > NH} \xrightarrow[\text{diluida}]{NaOH}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{glicilglicina}}{NH_2 - CH_2 - CO - NH\,.\,CH_2\,.\,CO\,OH}$$

Si al dipéptido glicilglicina, se suelda una nueva molécula de amino ácido, se obtiene un tripéptido; esto se realiza, tratando el dipéptido, disuelto en cloruro de acetilo, por pentacloruro de fósforo, con lo cual el grupo carboxilo $CO\,OH$ se transforma en el grupo $CO\,Cl$ y el cloruro de ácido obtenido, puede soldarse con una nueva molécula de amino ácido, reaccionando con el ester correspondiente:

$$NH_2\,CH_2 - CO - NH - CH_2 - CO\,OH \xrightarrow{PCl_5}$$

$$\longrightarrow NH_2 - CH_2 - CO - NH.\,CH_2\,CO\,Cl \longrightarrow$$

$$\xrightarrow{NH_2 - CH_2 - CO - OC_2H_5}$$

$$NH_2 - CH_2 - CO - NH - CH_2 - CO - NH - CH_2 - CO.\,O\,C_2\,H_5$$

el ester obtenido, por saponificación, produce el tripéptido correspondiente.

Por procesos sintéticos que tienen alguna analogía con los citados, pueden soldarse mayor número de moléculas de amino ácidos, obteniéndose polipéptidos superiores, pero la descripción detallada de estos métodos, no precisa para dar la idea general de los ensayos de síntesis, que es el objeto que nos proponemos.

Propiedades de los polipéptidos.

Los polipéptidos son cuerpos sólidos, cristalizables, solubles en el agua, poco solubles en alcohol, funden en general a más de 200°, a mayor temperatura se descomponen; los hidróxidos y los ácidos los transforman, regenerando por hidrolisis, los amino ácidos de que se partió para formarlos: no reducen las disoluciones de permanganato potásico: son activos a la luz polarizada, siendo bastante grande su poder rotatorio y sin que en ellos se haya observado el fenómeno de la multirotación: presentan el número de isomeros que previene la ley de Van t' Hoff y los obtenidos por sintesis, son generalmente los isomeros inactivos.

El ácido fosfotúngstico, precipita parte de los tripéptidos, casi todos los tetrapéptidos, pentapeptidos, etc., siendo generalmente el precipitado, soluble en exceso de reactivo. Gran número de ellos presenta la reacción del biuret, tanto más intensa, cuanto más larga es la cadena del polipéptido con que se opera.

Polipéptidos obtenidos.

Se han obtenido por síntesis más de un centenar de polipéptidos, siendo la mayoría di tri o tetrapéptidos: también se han obtenido términos más elevados partiendo de la glicocola, la alanina y la leucina. Hasta el año 1906, obtuvo Fischer 68 polipeptidos, entre los que se cuentan un pentapeptido, dos exapéptidos, un eptapéptido.

Los polipéptidos comprendidos entre los tetra y octo, presentan muchas analogías con las peptonas ordinarias; entre ellos se encuentran algunos que se desdoblan por la tripsina en amino ácidos, dan la reacción del biuret y les precipita el ácido fosfotúngstico. El sabor azucarado de los amino ácidos, se pierde en los polipeptidos, que presentan sabor un poco amargo, análogo al de las peptonas, por todo lo cual Fischer considera las peptonas naturales, como una mezcla de polipéptidos de este orden.

Los polipéptidos formados por la unión de doce o catorce moléculas de amino ácidos, tienen más analogías con las albumosas que con las peptonas; cuando la condensación llega a 18 moléculas, son análogas a los compuestos albuminoideos superiores. Fischer ha obtenido un polipéptido por la unión de quince radicales de glicocola y tres de leucina, que si se hubiera encontrado en la naturaleza, sin duda alguna se hubiera considerado como una proteína.

De sus investigaciones, deduce Spiegel[29] que la condensación de las peptonas para formar los albuminoides, no se hace por medio del oxígeno ni del nitrógeno sino del carbono, y que puede efectuarse esta condensación con el aldehido fórmico, cuerpo que parece desempeñar un papel importante. Análogos trabajos, aunque dirigidos en otro sentido, fueron realizados por Loew.

La formación por síntesis de la albúmina en los protoplasmas vivos, partiendo de los amino ácidos, ha sido especialmente estudiada por Ehrlich[30] en el caso particular de las levaduras y mohos, deduciendo que el nitrógeno ganado por la levadura, corresponde al perdido por los amino ácidos siendo este cambio, proporcional a la cantidad de azucar fermentescible en presencia, sin que este azúcar, forme parte directamente en la síntesis de la albúmina.

Posibilidad de que cada organismo posea sus albuminoides individuales.

Aplicando las reglas generales de cálculo para deducir los isomeros posibles para los compuestos albuminoideos, se deducen números enormes sin más que tener en cuenta las ideas expuestas sobre la constitución de estos cuerpos. Supuesta una molécula albuminoidea, formada no más que por veinte radicales amino ácidos, cada cambio de orden de estos radicales, supone un isomero distinto a los demás y aplicando la ley de permutación, resulta el número de isomeros posibles, igual a $2,3 \times 10^{18}$ es decir, 2, 3 trillones[31]. Pero este número todavía es mayor, atendiendo a razones de orden estereoquímico: en efecto, la inmensa mayoría de los amino ácidos, son activos a la luz polarizada, por contener atomos de carbono asimétrico; suponiendo que en la molécula albuminoidea considerada, de los veinte radicales que la forman, solo hubiera quince activos a la luz polarizada, cada uno de los $2,3 \times 10^{18}$ isomeros calculados por la ley

de permutación, podía presentarse, en 2^{15} formas ópticamente isomeras o sea en 32 768 formas. Tan enorme número de isomeros hace conceptuar posible, el que cada ser vivo posea sus albuminoides individuales, de lo que puede deducirse la enorme variedad de formas orgánicas.

Los trabajos de Fischer, de los que acabamos de dar una ligera idea, constituyen los ensayos más racionales de síntesis de albuminoides y puede esperarse, que perfeccionados cada vez más los métodos, se llegará a la síntesis de diferentes compuestos albuminoideos y como consecuencia, a conocer la estructura molecular de estos cuerpos, tan interesantes para los químicos como para los biólogos. Estos trabajos han demostrado plenamente que para la síntesis química no es una barrera la materia albuminoidea. El año 1828, inauguró Friederich Wöhler la síntesis orgánica, con la preparación artificial de la urea, desde esa fecha, muchos, muchísimos, han sido los compuestos orgánicos obtenidos sintéticamente, y de desear es que cuando se celebre el centenario de aquél hecho que dotó a la Química orgánica de uno de sus más fecundos métodos de trabajo, pueda contarse con un buen número de proteínas obtenidas por síntesis. Podemos tener la esperanza, de que gracias a las investigaciones sintéticas, se conocerá la constitución química de los compuestos albuminoideos, y «la Biología sacará provecho de esto, para resolver problemas químicos que le interesan mucho»[32].

Síntesis bioquímica.

Actualmente, los métodos de trabajo para la obtención por síntesis de los compuestos orgánicos, se ha enriquecido con nuevos métodos en los que para construir la molécula, se utilizan los mismos medios que en los organismos realizan el trabajo sintético, las diastasas: estos métodos de síntesis se denominan *síntesis bioquímica* y han sido realizados principalmente por Bourquelot[33] que ha llegado a obtener glucósidos por métodos bioquímicos, realizando en el Laboratorio síntesis que no sólo son iguales en su principio, sino también en sus medios, a las síntesis que se realizan en los organismos vivos. Al tratar de las diastasas insistiremos sobre estas ideas.

La reacción anfótera en los albuminoides.

Las moléculas de los compuestos albuminoideos como las de los amino ácidos, funcionan como ácidos o como bases plurivalentes (reacción anfótera) formando con las bases o con los

ácidos, sales hidrolizables. Por esta propiedad, los albuminoides precipitan por acción de algunos ácidos (pícrico, fosfotúngstico), y esto es utilizable en el teñido de fibras orgánicas, porque los albuminoides precipitan en presencia de colores ácidos.

La citada reacción anfótera, demuestra que en la molécula albuminoidea, existen simultáneamente funciones ácido (carboxilo) y funciones básicas (amina): según hemos visto en la síntesis de la glicilglicina, la unión de las dos moléculas de amino ácido, se realiza sirviendo de lazo las funciones de carácter opuesto, pero no por ello hay que suponer que del mismo modo se unen los diferentes amino ácidos que forman en la molécula albuminoidea, pues de este modo resultarían monoácidos y monobásicos (Erbs) y el hecho es, que poseen varias de estas funciones y hasta que la basicidad de los compuestos albuminoideos, crece con el número de amino ácidos contenidos en su molécula (Kossel), habiendo por otra parte demostrado Spiro, que las albúminas son ácidos polibásicos. De estos hechos se deduce que la unión de los amino ácidos entre sí, no se hace siempre por los extremos formando una cadena lineal.

Ademas de las reacciones, de las que puede presentarse como tipo la formación de los compuestos de naturaleza salina que forman los albuminoides al reaccionar con los hidróxidos, según leyes físico-químicas, fórmanse complejos por consecuencia de la acción de superficie, cuando como en la materia viva ocurre siempre, los albuminaides se encuentran en estado coloidal. En las reacciones bioquímicas de las albúminas, obran en conjunto las energías físico-coloidales y las energías físico-químicas dependientes de su constitución química[34].

Grupos hemi y anti.

Debido a que los agentes de hidrolización actúan sobre los albuminoides con intensidades muy diferentes, se deduce que en sus moléculas hay fracciones, como por ejemplo las que contienen tirosina o triptofano, fácilmente hidrolizables, mientras que otras que contienen glicocola, fenilalanina, son difícilmente hidrolizables: este hecho ha dado origen a una distinción establecida por Kuhne, que designa con el nombre de *anti* la parte del compuesto albuminoideo que contiene el grupo de la glicocola y alanina, y *hemi*, la que contiene los análogos a la tirosina y al triptofano. Una misma molécula albuminoidea, puede tener uno

o varios núcleos que resistan la acción de los agentes hidrolizantes (la tripsina, por ejemplo), unidos a cadenas laterales, más fácilmente hidrolizables.

La distinción entre los grupos hemi y anti, tiene algún interés práctico, porque da indicaciones sobre el valor alimenticio de los compuestos albuminoideos[35], así por ejemplo, la globulina y la caseína que se digieren fácilmente, no contienen glicocola, mientras que la sero albúmina que la contiene en gran cantidad, es más difícilmente digerible. El carácter de los albuminoides, no sólo depende del número de amino ácidos que cada uno posea, sino también del modo como se encuentren estos repartidos, entre los grupos hemi y anti.

Entre las cadenas carbonadas de las moléculas albuminoideas, coexisten las acídicas, cíclicas y a veces las heterocíclicas, juntamente con radicales hidro carbonados cuya existencia ha podido demostrarse por haber sido aislada de algunos albuminoides (de la ovoalbúmina por ejemplo), la glicosamina (Lidderhosé), encontrada después por otros varios investigadores en las mucinas y mucoides. Estos hechos tienen importancia porque la glicosamina:

$$CH_2\,OH - CHOH - CHOH - CHOH - CH_2 - NH - CHO,$$

parece ser un lazo de unión entre los hidratos de carbono y las proteínas[35].

Reacciones de los albuminoides.

Los compuestos albuminoideos, son pues unas substancias muy complejas bajo el punto de vista químico, que presentan muchas diferencias de composición y un enorme número de diferencias de estructura; sus moléculas, se construyen con los mismos elementos de construcción, los amino ácidos, por lo cual, aun cuando se diferencian entre sí, se caracterizan por un cierto número de reacciones generales del mismo tipo, de las cuales, aun cuando ninguna es rigurosamente característica, un conjunto de varias de ellas caracteriza a los compuestos albuminoideos. Entre las de coloración pueden citarse como más importantes, las del biuret (Piotrowski Rose), la xantoproteíca, Millon, Nogel, Molich, Adamkiewiez, la diazorreacción de Ehrlich, la p. dimetilaminobenzaldehido, etc. Las de precipitación pueden provocarse, usando como precipitantes, ácidos o sales, y se utilizan muchas veces, para efectuar separaciones fraccionadas de albuminoides. Con-

viene advertir, que casi todas las propiedades, que como características de la materia albuminoidea se citan en muchas publicaciones, son más bien, caracteres generales de coloides, sin valor alguno para definir esta agrupación de compuestos.

Formación de los albuminoides en los organismos.

No es posible actualmente, precisar las etapas que recorre la materia hidrocarbonada para producir en concurrencia con la materia nitrogenada los albuminoides. Se ha establecido la hipótesis, de que los nitratos por la acción del metanal son reducidos y transformados en metanonitrilo HCN, punto de partida de la síntesis albuminoidea (Gautier)[36]. La constante presencia de la esparraguina en los vegetales, hace sospechar a Loew, que ese será el núcleo fundamental de la molécula albuminoidea: Pfeffer considera insuficiente esta hipótesis. Sin que ello explique la formación de los albuminoides, supone Bach, que reducido el ácido nítrico, hasta la forma de hidroxilamina, ésta, en presencia del metanal, produce formaldoxima ($CH_2 = N - OH$) que se transforma en formamida ($CHO - NH_2$), molécula que por estar constituída por los grupos amidógeno y aldehídico, puede producir muy variadas agrupaciones, aptas para formar albuminoides por síntesis.

La materia albuminoidea sintetizada por los vegetales, es parcialmente utilizada por el vegetal mismo para sus reacciones vitales, otra porción, sufre la fermentación putrida después de la muerte del vegetal o por sus pérdidas anuales (hojas, frutas, etc.), pero la mayor parte se utilizan para la nutrición de los animales.

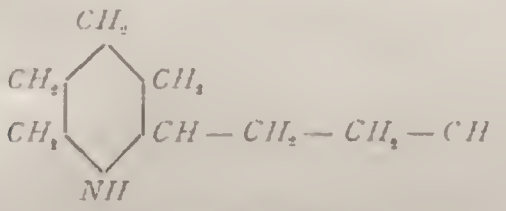
Desdoblamiento de los albuminoides en los organismos.

La materia albuminoidea, se desdobla mediante reacciones bioquímicas, llegando en su disgregación a formar agrupaciones moleculares, que ya no presentan las reacciones características de los albuminoides; cuerpos que tienen este origen, se encuentran en la materia viva, como productos de tránsito, y se eliminan por acciones vitales normales. Cuando el ser vivo, no posee órganos de excreción adecuados (caso general en los vegetales), sostiene esos productos, que son siempre tóxicos para la célula que los produce, fuera de la circulación vital, realizando las paredes de las células esta separación, y almacenándolos en distintas partes del vegetal.

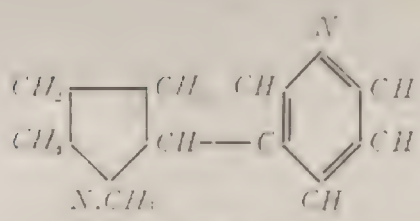
Las llamadas bases orgánicas, alcaloides, glucósidos, ptomaínas o leucomaínas, son productos de disgregación por hidro-

lisis de la molécula albuminoidea: las acciones hidrolíticas generadoras de estas moléculas, son generalmente diastásicas. Hay que advertir que de moléculas de estos cuerpos, forman parte casi siempre núcleos cíclicos; existen sin embargo algunas bases orgánicas acíclicas, como las metilaminas, etilaminas, putrescina, colina, neurina, etc. Productos de la disgregación de las albuminoides.

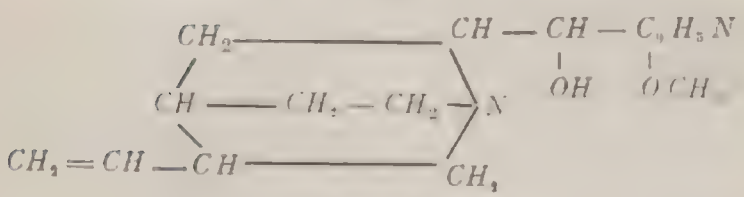
Entre los alcaloides cuya constitución química se ha determinado, hay unos que como la cicutina, posee el grupo pirídico, otros como la nicotina, contienen unidos los grupos piridínico y pirrólico, otros como la quinina, contiene el grupo quinoleico: Alcaloides.



α propil piperidina (cicutina)



(nicotina)



(quinina)

Según las ideas de Pictet [8], los alcaloides son en los vegetales, productos de desasimilación, que representan en el reino vegetal, lo que la urea ácido úrico, glicocolas y pigmentos biliares en el reino animal; estas ideas dirigieron los trabajos de investigación de Gams, Splengler y Malinowski, que dieron como

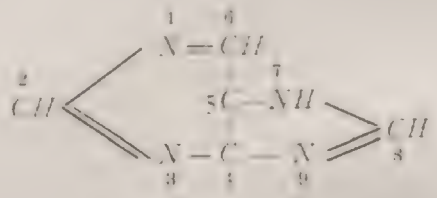
resultado, la obtención por síntesis de la berberina y varios alcaloides del opio.

Purina y sus derivados.

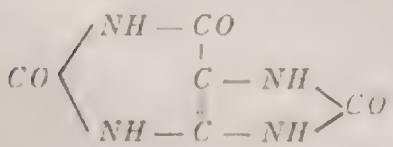
Fischer ha establecido un grupo de cuerpos, que se consideran como derivados de la purina, todos los cuales, poseen la función básica mucho más débil que las bases que antes hemos citado, funcionando también en algunas circunstancias como ácidos muy débiles. La purina, primer término de esta serie fué obtenida, hidrogenando la tricloropurina que se produce cuando se trata el ácido úrico por el oxicloruro de fósforo.

La purina se forma en los organismos (Fischer) y de ella se derivan muchos cuerpos, algunos importantísimos, como la adenina, hipoxantina, guanina, xantina, heteroxantina, teobromina, cafeina, ácido úrico, etc.

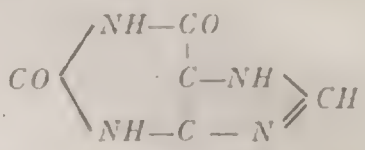
La constitución química de la purina, se representa por la fórmula:



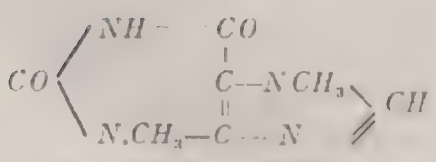
en la que se numeran los átomos fundamentales del grupo, para referir después, la posición relativa de las sustituciones; la constitución de algunos derivados de la purina es:



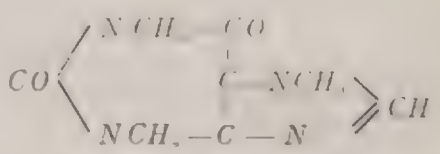
trioxipurina 2. 6. 8.
(ácido úrico)



dioxipurina 2. 6.
(xantina)



dimetil 3. 7. dioxipurina 2. 6.
(teobromina)



trimetil 1. 3. 7. dioxipurina 2. 6.
(cafeína)

El nitrógeno que resulta de la destrucción intraorgánica de la materia albuminoidea, se elimina en muchos casos, en forma de urea. La degradación de la molécula albuminoidea, hasta que su nitrógeno forma parte de moléculas de urea, no es exclusiva de los organismos animales: si se cultiva en cultivo puro aséptico, el *aspergilius niger* o el *Penicillium glaucum*, forman urea, teniendo el líquido de cultivo, azúcar y amoníaco. En los vegetales superiores, también se produce, habiendo observado Fosse[37] que la célula vegetal, es capaz de formar urea y de hecho se forma, en la germinación del trigo, cebada, maíz, guisante, haba, es decir, cuando el vegetal consume los materiales de reserva, acumulados en la semilla. La urea se origina, en la oxidación de los albuminoides, según ha demostrado de manera concluyente Hugounenq[38], produciendola al oxidar por medio del persulfato amónico, la albúmina disuelta en agua amoniacal. Urea.

La constitución química de la urea, se representa en la fórmula:

$$CO < \begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}$$

que dice ser la urea, un derivado diamídico del ácido carbónico en el cual, si sustituímos su oxígeno por azufre o por el radical imidógeno, obtendremos respectivamente, la sulfourea y la guanidina:

$$CS < \begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix} \qquad \underset{\text{guanidina}}{CNH < \begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}}$$

De la guanidina, como de la urea, se derivan compuestos muy importantes, sustituyendo hidrógenos de los grupos amídicos, por distintos radicales alcohólicos o ácidos: así se obtienen todos los ureidos (ácidos oxalúrico, parabánico, barbitúrico aloxana, etc.), sustituyendo átomos de hidrógeno de la urea, por radicales ácidos y las aminoureas, si los radicales que sustituyen hidrógenos, fueran alcohólicos. Así también se derivan de la guanidina, la creatina, creatinina, etc. Ureidos

El proceso químico de evolución de la materia orgánica nitrogenada en los organismos, tiene en Química Biológica una gran importancia, pero su desarrollo no encaja en los límites de esta obra. Para el caso particular del organismo humano, Mai- Evolución en los organismos de la materia nitrogenada.

llard[59] ha realizado estudios muy importantes de los que se deduce la formación y la inestabilidad de los amino ácidos, en diversos procesos de nutrición, así como diversos modos de formación de urea, a partir de los elementos de construcción de la molécula albuminoidea.

La degradación de los albuminoides que produce en último termino urea, supone en primer lugar una hidrólisis, que pone en libertad los amino ácidos y a esto sigue, o simples desdoblamientos hasta llegar a la urea, o una desaminacion que aisla los grupos NH_2, que después por la acción del acido carbonico, forman carbonatos amónicos o carbamatos, que por último producen la urea.

LOS LIPOIDES

Tan indispensables para el desarrollo del proceso vital como los compuestos albuminoideos, se conceptuan los cuerpos con los que estableció Overton, en 1900 el denominado grupo de los *lipoides*, formado por cuerpos, que no tienen propiedades semejantes de orden químico, pero que presentan en cambio, analogías de orden físico y biológico, por lo cual constituyen un grupo biofísico.

Carácter general de los lipoides.

Los lipoides son cuerpos que por su aspecto se parecen a las grasas: tienen disolventes análogos a los de las materias grasas, no son miscibles con el agua y en general les disuelven todos los líquidos orgánicos dotados de propiedades anestésicas. Su carácter general más importante, es el de ser disolventes de las substancias útiles para la nutrición del plasma celular.

De los trabajos de Overton se deduce, que la capa externa del plasma celular, está constituída principalmente por lipoides y que el plasma, no asimilara substancia alguna puesta en contacto con la célula, que no sea soluble en estos cuerpos, resultando así como consecuencia de acciones físicas entre materias puestas en contacto, la selección de substancias que realizan las células, porque en ellas las capas externas, no son rigurosamente semipermeables, pues resultan permeables para todos los cuerpos que en ellas se disuelven. Según se deduce de los trabajos experimentales de Nernst y Flusin, la velocidad con que los cuerpos

pasan a través de membranas, depende principalmente de su solubilidad en los componentes de la pared que pueden atravesar, resultando ésta totalmente impermeable, para los cuerpos en los que sea insoluble. Ejemplo, los tabiques de caucho, son permeables para el cloroformo, tolueno (disolventes del caucho, etc.) e impermeables para el alcohol.

Rosenheim ha clasificado los lipoides[40] en tres grupos que denomina, colestéricos, cerebrogalactósidos y fosfátidos. La constitución química de los lipoides es muy variada entre ellos y muy complicada, no siendo todavía bien conocida en la mayoría de los casos; ya hemos dicho que estos cuerpos no presentan semejanza alguna de orden químico. Clasificación de los lipoides.

El grupo de lipoides denominado lecitinas, contiene los de constitución química mejor conocida. Las lecitinas son cuerpos de cuya molécula forman parte esteres glicéricos, por lo que se parecen en algo en su constitución a las materias grasas; además poseen grupos fosforados y nitrogenados. Puede representarse su constitución por el esquema: Lecitinas.

$$\begin{array}{l} CH_2 - O.R \\ | \\ CH - O.R' \quad O \\ | \qquad\qquad \| \\ CH_2 - O \text{——} P - OH \\ \qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\quad O - R'' \end{array}$$

en el que el resto glicérico $\overset{|}{C}H_2 - \overset{|}{C}H - \overset{|}{C}H_2$ está saturado por dos radicales de ácidos grasos $R - R'$, que pueden ser del oléico, esteárico, margárico, etc., y por una basicidad del ácido fosfórico $PO_4 H_3$ que a su vez, satura otra con un radical R'' nitrogenado, que en las lecitinas mejor conocidas, es la colina $(CH_3)_3 N < {}^{C_2 H_4 . OH}_{OH}$. Conocida esta constitución, se deduce fácilmente el gran numero de lecitinas que pueden formarse.

Los protargones, lipoides que se encuentran muy repartidos en los tejidos nerviosos, se suponen formados por la combinación de lecitinas con otros lipoides no fosforados, denominados cerebrósidos, que tienen como caracter general, el que por desdoba- Protargones.

miento, producen derivados de ácidos grasos, bases orgánicas nitrogenadas, galactosa y un hidrato de carbono.

Colesterina.

La colesterina y sus derivados, forman el grupo de los lipoides colestéricos que como los anteriores, se encuentran muy repartidos en los organismos. La fórmula empírica de la colesterina, es $C_{27} H_{46} O$ y su constitución química no se conoce completamente, pudiendo representarse por el esquema siguiente, lo que de esta constitución es conocido:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ CH_3 \end{array} > C_{20} H_{31} - CH = CH_2$$

$$CH_2 - CHOH - CH_3$$

en el cual con el grupo alcohol secundario y la unión etilénica, aparece el aglomerado $C_{20} H_{31}$ todavía indefinido que, indudablemente, contendrá agrupaciones cíclicas.

Los lipoides en los fenómenos vitales.

Ejercen los lipoides acciones físico-químicas y químicas importantísimas en los fenómenos vitales. Vincent y Takaki, atribuyen a la colesterina en la bilis y a los cerebrósidos en el tejido nervioso, la neutralización de toxinas bacterianas, así como Calmette Massol y Guerin, demuestran que la lecitina favorece la resistencia del organismo al bacilo de la tuberculosis: la toxina diftérica, se fija particularmente sobre los lipoides fosforados de la célula nerviosa, habiendo demostrado Laroche y Grigawt[42], que por efecto de esta fijación, las propiedades tóxicas se activan formándose en el tejido nervioso una combinación muy compleja y bastante estable: la materia nerviosa, obra en este caso como fijador, activante y absorbente. La explicación de la inmunidad de los organismos para las infecciones, habrá de explicarse en adelante tomando como base el estudio de los equilibrios físico-químicos de los lipoides[41] y abandonando las fantásticas representaciones del acoplamiento mecánico del antígeno, del anticuerpo y del complemento.

Para que los cuerpos puedan reaccionar con las materias que forman el plasma celular, precisa como primera condición que sean solubles en los lipoides, que forman parte de la envolvente celular. Supuestos en presencia agua y lipoides, considerados como disolventes, Overton y Hans Meyer han demostrado

estudiando el papel de los lipoides en el mecanismo de la anestesia, que en la serie de agentes que provocan la narcosis, el poder anestésico es tanto mayor, cuanto mayor sea el coeficiente de partición entre el agua y los lipoides en cada caso.

El fenol ordinario, soluble en los lipoides, es muy tóxico, pero su derivado sulfonado insoluble en estos cuerpos, no es tóxico; de todos los compuestos de mercurio, el cloruro mercúrico es el tóxico, por ser soluble en los lipoides, etc.; los cuerpos actúan sobre los plasmas celulares cuando son solubles en los lipoides, pues en otro caso, la capa lipoidea obra como tabique de separación y las acciones mutuas no pueden realizarse; Wacker y Schmincke[43] haciendo ensayos con numerosas substancias al objeto de reproducir proliferaciones epiteliales, llegaron a la consecuencia de que solo dan algun resultado positivo, las substancias que presentan la propiedad común de ser solubles en los lipoides.

ANALOGÍA QUÍMICA ENTRE LA MATERIA VIVA Y LA MATERIA INERTE.

El estudio químico de la materia viva, plantea esta interesante cuestión: ¿se diferencia químicamente la materia viva de la materia inerte? De la muerte, ¿resulta un cambio en la arquitectura de las moléculas?

Por el papel que a los albuminoides se atribuye en los fenómenos vitales, se ha estudiado particularmente este problema con referencia a la materia albuminoidea, por encontrarse estos compuestos en estado químico de constante transformacion durante la vida, para alcanzar una estabilidad más o menos permanente, cuando la materia deja de experimentar las transformaciones características de los fenómenos vitales.

El protoplasma vivo, presenta reacción neutra o alcalina, que generalmente cambia en ácida después de la muerte; los nombres de *molécula plásmica*, *plastidulo* y *biógeno* propuestos por Elsberg, Haeckel y Verworn, para designar la agrupación química de la materia que se transforma por la actividad vital, representan una diferenciación entre las albúminas vivas o muertas, pero el explorar la diferencia de estructura química

entre unas y otras, resulta dificilísimo para el químico, porque la más pequeña acción, que se aplica como medio en cualquier proceso de investigación, deja en sus manos la albúmina muerta. A pesar de estas dificultades, se ha intentado resolver esta cuestión, tomando como base las transformaciones químicas efectuadas en los organismos.

Pflüger, que fué el primero que planteó este problema, lo resuelve suponiendo que entre unas y otras albúminas, reside la diferencia, en que en la viva, existe el radical cianógeno, CN, procedente de la deshidratacion del grupo amídico, $CONH_2$; la base de esta hipótesis pierde mucha fuerza, estudiando los modos de descomposición de los albuminoides, para conocer los productos de la regresión de sus moléculas.

Estabilización de las albúminas.

Todos los reactivos químicos que *in vitro* atacan los aldehidos y las bases primarias, observa Loew que son invariablemente, venenos del protoplasma vivo, no teniendo influencia alguna, sobre la albúmina muerta y de ello deduce, que la albúmina viva posee y en esto se diferencia de la muerta, los grupos aldehídico y amidógeno: la estabilización de la albúmina, consiste, según este investigador, en la saturación mútua de estos dos grupos, el uno con el otro.

Duclaux afirmó, que sería de carácter estereoquímico, la diferencia química que existiera entre las albúminas vivas y las muertas.

Observa Pictet,[8] que los grupos aldehídico y amidógeno son monovalentes y que al saturarse, han de cerrar cadena, deduciendo que la estabilización de las albúminas, es un paso de compuesto acíclico a cíclico. La molécula de albúmina así estabilizada (según las ideas de Loew y de Pictet), por la acción de los microrganismos de putrefaccion, vuelve a ser lugar de incesantes transformaciones químicas, ahora en el sentido de simplificar, de demoler la molécula, para que sus elementos entren nuevamente en el ciclo de transformación de la materia.

La albúmina viva se conceptúa, como materia que se modifica por las más tenues acciones, debidas a la acción de las zimasas a ella asociadas[44] que obran como catalizadores.

Expuestos ya algunos antecedentes de este asunto, diremos que en nuestro concepto, no hay diferencia de orden químico

entre la materia viva y la materia muerta, y así, con esta generalidad creemos que debe plantearse el asunto, pues no hay razón alguna para hablar de albúminas vivas o muertas y no hablar de lipoides, de glucosas, o de grasas, vivas o muertas. No se ha demostrado de un modo concluyente, que tal diferencia química exista, pues la ingeniosa teoría de Loew ha sido rectificada por el mismo autor en algunos puntos; puede pues afirmarse, que en el concepto químico, es idéntica la materia viva a la materia muerta, que existen relaciones entre la actividad vital de los cuerpos y su constitución química, pero que no se ha encontrado carácter químico alguno, que diferencie la materia viva de la materia muerta. La diferencia esencial que existe entre estos dos modos de presentarse la materia, es en nuestro modo de ver de orden físico-químico: de la materia viva, forma la parte más importante, un complejo sistema coloidal, y mientras este sistema persiste, la vida se manifiesta, y mientras presente menor viscosidad, la vida se manifestará más intensa, las reacciones vitales tendrán mayor velocidad: pero si la viscosidad aumenta, o si por variaciones de hidrófila micelar, disminuye la superficie de la micela mucho más que su masa, las reacciones vitales se refrenan; si por este camino a la larga o más rápidamente por la acción violenta de un agente de coagulación, el sistema coloidal se destruye por insolubilizarse la masa dispersa, formación de gel: la materia viva, por este cambio físico-químico, se ha convertido en materia muerta. Estabilizarse la materia en relación con las reacciones vitales, es simplemente un cambio del estado dinámico hidrosol, al estático hidrogel.

Analogía [química entre] materias viva y muerta.

Los cuerpos que en cualquier grado de dispersión, sean capaces de producir por afinidad química o por adsorción, la desarmonía de los fenómenos vitales normales, producirán el trastorno en su proceso que se denomina enfermedad y si esa acción, es suficientemente intensa para originar la coagulación del sistema, producirán la muerte: del mismo modo, toda accion física, capaz de producir efectos análogos en los sistemas coloidales, originará el tránsito de la materia viva a la materia muerta.

La coagulación en la materia viva.

En los organismos de estructura muy complicada, y con órganos diferenciados, basta que sucumba alguna parte esencial, para que a este fenómeno suceda la paralización o suspensión

total de las reacciones vitales, con la coagulación de los sistemas coloidales que les constituyen.

En los organismos monocelulares autónomos, la misma sencillez de constitución, hace que su coagulación, supuestos en medio líquido de composición y presión osmótica conveniente, se retarde extraordinariamente. En nuestros estudios sobre la fermentación alcohólica, hemos tenido ocasión de comprobar que en los sedimentos de los vinos añejos, no alcoholizados (encabezados), existe vivo el fermento alcohólico. MM. Gayon y Dubourg [46] han comprobado que en el depósito de un vino embotellado «Chateaux Lafflite» de 1803 existían levaduras vivas que adquirieron en cultivos sucesivos plena vitalidad.

Resistencia de los organismos monocelulares a los descensos de temperatura.

En los sistemas coloidales, un descenso de temperatura, refrena sus actividades físico-químicas, pero por esta causa, el sistema no se destruye, reapareciendo cuando la temperatura se eleva, con análoga actividad a la que poseía antes de someterse al enfriamiento: si el método de dispersión se solidifica, el desmenuzamiento de materia dispersa persiste en el mismo grado que antes poseyera. En cambio, elevando la temperatura, los sistemas coloidales coagulan, para no recuperar su estado coloidal en el mismo medio de dispersión, los irreversibles.

Estos hechos deducidos del estudio del estado coloidal, sirven para interpretar otros muchos de observación en los fenómenos vitales: la acción del calor sobre las diastasas, la variación de su actividad [47], con la temperatura; la resistencia de los organismos monocelulares a las bajas temperaturas, observada por Cagniard-Latour que sostuvo a — 90° en una mezcla de anhidrido carbónico y éter la levadura de cerveza, sin que por ello perdiera su carácter de fermento; por Pictet y Young, que sometieron durante 20 horas el *bacillus subtilis* a la temperatura de — 130°, recuperando este microorganismo su vitalidad cuando se le lleva a la temperatura ordinaria. De estos y otros hechos deduce Duclaux [48], que los microbios tienen una gran resistencia a las bajas temperaturas.

Jolley conserva sangre de triton, tomada en buenas condiciones de asepsia, a la temperatura de 0° durante cuatro meses y medio [49] y al cabo de este tiempo, presentaban los leucocitos caracteres de vitalidad, con sus movimientos amiboideos.

Paul Becquerel[50] operando con semillas y esporos de mucoraceas y de ascomycetes, comprobó que germinan como las semillas y esporos normales, después de sometidos (previa desecación al vacío) durante tres semanas, a la temperatura del aire líquido, — 180°, y 77 horas a la del hidrógeno líquido, — 253°.

Entre los trabajos científicos realizados en la expedición Shacketon, hay uno que se refiere a la vitalidad de los rotíferos[51] que viven sobre los musgos, del que se deduce que soportan la congelación y al fundir un trozo de hielo que los contenga, se les ve agitarse a millares. Murray ha hecho varias experiencias sobre estos seres, que en aquellas regiones solo pueden crecer y reproducirse, en algunas horas que durante los días de verano, los rayos solares llegan a deshelar los musgos que les contienen.

Sensibilidad de la materia viva a la acción del calor.

Por la acción del calor, las cosas pasan de manera bien distinta: al tratar del agua como componente esencial de la materia viva (V. pág. 114), hemos citado varias experiencias de las que deducíamos la necesidad imprescindible de conservar el estado coloidal, para que la materia viva recuperase su actividad vital, al restituirle el agua que perdió al ser desecada y que los fenómenos vitales no se manifiestan, si la acción del calor fué tan intensa, que diera lugar a la formación de gel (esterilización por el calor).

Interpretamos todos estos hechos, admitiendo que la muerte sobreviene por consecuencia de la destrucción del estado coloidal y la vida persiste en todos los casos en que el sistema coloidal no se destruye. No hay que advertir, que en los seres de constitución más complicada, en los que la variación de estado y el aumento de volumen que el agua, medio de dispersión sufre al solidificarse, provoca la suspensión de ciertas funciones esenciales, la muerte individual sobreviene por esta causa, al sufrir fuertes descensos de temperatura, pero esto no modifica las ideas que exponemos, pues estos son fenómenos de orden secundario: el fenómeno en su esencia, no puede estudiarse más que en organismos muy sencillos, siendo los monocelulares, los que particularmente se prestan a este género de investigaciones.

Interpretación de estos hechos de observación.

Todavía se robustecen estas ideas, que definen la muerte

como consecuencia de la formación de un gel, por el estudio del movimiento browniano de las micelas de composicición química análoga a las componentes fundamentales de la materia viva y por el estudio ultramicroscópico de la célula viva, observando la acción de los antisépticos y de los tóxicos, trabajos de investigación que hemos realizado, y los que damos cuenta en el Capítulo V.

De este modo de ver, como la muerte puede desarrollarse en la materia viva, se deduce la posibilidad de que no en todos los organismos sobrevenga la muerte natural, que es la consecuencia de la vejez. En los organismos monocelulares, estudió Maupas en 1888[52], la multiplicacion y conjugacion de los infusorios, deduciendo que perecen inevitablemente, si no es que por la conjugación, se preservan de la vejez y de la muerte natural. Unos años después, Calkins y sus discípulos, disponiendo de mejores metodos experimentales[53], demuestran que sin conjugacion, puede prolongarse la vida de los infusorios, mediante ciertos estimulantes, pero al cabo de 700 generaciones, perecieron por inanición. Dedujo de estas experiencias su autor, que en los protozoos se observa una cierta *depresión* durante la cual, se nutren mal y se dividen con mucha lentitud; esta depresión, la considera Calkins como vejez, y si persiste durante mucho tiempo, el organismo puede morir. Ch Sedgwick Minot[54] no admite que la depresión observada por Calkins, represente la vejez y deduce la conclusión, de que la muerte natural, no sobreviene en los organismos monocelulares y que no apareció en la tierra, hasta que se desarrollaron los animales y las plantas multicelulares.

Inmortalidad de los organismos monocelulares.

Sobre este interesante asunto, las más recientes investigaciones son sin duda las de Metalnikoff realizadas en el Laboratorio de Biología de Lesgaft, de Petrogrado[55] que fueron comenzadas en 1908, operando con el *Paramœcium caudatum* de los que obtuvo en siete años, 2483 generaciones sin conjugación, experiencias éstas, cuyos resultados están conformes con los que separadamente obtuvo el biologó americano Woodruf el cual llegó en 1914, al cabo de siete años de trabajo con un mismo infusorio, a 4500 generaciones, sin conjugación.

Metalnikoff cultiva el *paramœcium* en un líquido que prepa-

ra con infusión de heno o con una solución diluída (0,025 por 100) de extracto de carne Liebig y hecha la reproducción, separa los infusorios de modo que no deja más que uno por cultivo y así la conjugación no se produce. Gráficamente el autor ha representado por medio de una curva, la multiplicación del infusorio, con observaciones tomadas durante seis años y medio y termina su trabajo afirmando, que los infusorios capaces de reproducirse por división, poseen probablemente una inmortalidad potencial y en ciertas condiciones, pueden reproducirse indefinidamente sin necesidad de conjugación.

En opinión de Dastre[56] para los seres menos diferenciados, no hay ley alguna que limite su vida.

Más adelante, insistiremos sobre este punto; en el capítulo actual, basta con expresar la idea de que no existe comprobada diferencia alguna de orden químico entre la materia viva y la materia muerta: que este cambio es de orden físico-químico, derivado de la transformación de un sistema coloidal, que deja de serlo, por causas capaces de producir el cambio de materia viva a materia muerta. Este problema, como algunos otros, hay que sacarlo de la Química orgánica, donde ha sido y es estudiado, para traerlo a la Química coloidal, que es donde puede ser resuelto.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. Dr. B. Solano, *La Química en el espacio*. Discurso inaugural. Universidad de Zaragoza, curso de 1887-1888.

2. P. Feyjoó, *Cartas eruditas*. Carta XVIII, t. III, corolario 3.º, n.º 30. Madrid, 1760.

3. P. Rodríguez, *El Philoteo*, t. II, p. 91. Madrid, 1776.

4. Loeb, *La conception mecanique de la vie*, p. 211. París, 1914.

5. Loeb, *La dynamique des phenomenes de la vie*, p. 144. París 1908.

6. Pauli, *Wiener Akad. Anz.*, 12, Octubre 1899.

7. Gaube, *Cours de mineralogie biologique*. París, 1897-1903.

8. Amé Pictet, *La structure moleculaire et la vie*. Discurso inaugural en la 97 sesión de la Soc. hel. des Sciences nat. Geneve, 12-15 Septiembre 1915.

9. C. Schmidt, *Liebig's Annalen der Chemie*, t. LI, p. 30. 1844.

10. A. Baeyer, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, t. III p. 68. A. Wurtz, t. V, p. 534.

11. Mori, *Jahresberichte der Chemie*, p. 1143, año 1882.

12. Kimpflin, *Revue Scientifique*. Paris 10 Diciembre 1910.

13. R. Fittig, *Ueber die Constitution der sogenannten Kohlenhydrate Festschrift*. Tübingen, 1871.

14. Le Bel, *Bulletin de la Societé chimique de Paris*, 2.ª s., t. XXII, p. 337.

15. E. Fischer, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, t. XX.

16. Boutlerow, *Liebig's Ann. der Chemie*, t. CXX, p. 295.

17. Tollens, *Berichte der deuts. chem. Gesell.*, t. XV, p. 1629 y t. XVI, p. 1917.

18. Loew, *Journal fur praktische Chemie*, 2.ª s., t. XXXIII, p. 321 y t. XXXIV, p. 51.

19. *Comptes Rendus, de l' Acad. des Sciences de Paris*, t. CL, páginas 1169-1327-1517-1690. Año 1910.

20. Stoklasa y Zdobnicky, *Biochem. Zeitsch.*, t. XXX. p. 433. año 1910.

21. B. Tollens, *Les hydrates de Carbone*. Trad. par L. Bourgeois. p. 160. París, 1896.

22. Gerber, *Comptes Rendus*, t. CXXV, p. 658.

23. Lewkowitsch, *Constitución e hidrolisis de las materias grasas*. Conferencia ante la «Société chimique de France». Bulletin de la Soc. chim. de Fr.», 20 Mayo 1909.

24. Arrhenius, *Zeitschr physik., Chem.*, 2-284-1888.

25. W. Nernst, *Traite de Chimie generale*. Trad. par Corvisy, t. I, p. 278. París, 1911.

26. Herzog, *Biochem. Zeitschr*, año 1908.

27. E. Fischer, Conferencia ante la «Deutsche Chemische Gesellschaft», publicada en los *Berichte* de esta Sociedad. 6 de Enero de 1906.

28. E. Abderhalden. Conferencia en el Congreso de Naturalistas de Viena. *Chemiker Zeitung*, XXXVII, 1155.

29. L. Spiegel *Bildung hoeherer Eiweifscoerper aus Peptonen*, Ber. d. D. chem. Gess. Jahrgang t. XXXVIII, p. 2696-2702.

30. Ehrlich, *Biochem. Zeitsch*, t. XXXVI, p. 477. Octubre, 1911.

31. A. F. Holleman, *Traite de Chimie organique*. Trad. par Bernheim, p. 293. París, 1911.

32. E. Fischer, *Ber. der Deuts. Chem. Gesells.* t. XXXIX, páginas 560-660, año 1906.

33. Bourquelot, *Annales de Chimie*, 9.ª s., t. III, p. 287 y t. IV, p. 310, año 1915.

34. Von Hans Handovsky, *Fortschritte in der Kolloidchemie der Eiweisskorper*, p. 18. Dresden, 1911.

35. Emm. Pozzi-Escot, *Sinthése et constitution des albuminoides*, p. 92. Paris, 1909.

36. Gautier, *Chimie Biologique*. 1892.

37. R. Fosse, *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences*. Paris, 17 Febrero 1913.

38. Hugounenq, *Comptes Rendus de l'Acad. des S. de Paris*, t. CXXXII.

39. L. C. Maillard, *Le metabolismo de l'azote humain*. «Revue Scientifique». París, 26 Febrero, 1910.

40. Hogounenq, *Precis de Chimie Physiologique et pathologique*, 3.ª edic., p. 58. Paris, 1912.

41. J. R. Carracido, *Los lipoides celulares*. Asoc. española para el Progreso de las Ciencias. Congreso de Valladolid. Octubre, 1915.

42. Laroche et Grigaut, *Annales de l'Institut Pasteur*. Diciembre, 1911.

43. Wacker y Schmincke, *Experimentelle Untersuchungen zur hausalen Genese atypischer Epithelwucherungen*. Munch. med. Woch., t. LVIII. 25 Julio y 1 Agosto 1911.

44. Carracido, *Quimica biológica*, p. 367. Madrid, 1903.

45. Cl. Bernard, *Leçons sur la chaleur animale*, p. 391.

46. Gayon et Dubourg, *Revue Scientifique*. París, 10 Agosto de 1912.

47. E. Duclaux, *Traité de Microbiologie*, t. II. *Diastases, Toxines et venins* p. 171.. Paris, 1899.

48. E. Duclaux, *Traité de Microbiologie*, t. I. *Microbiologie generale*, p. 272. Paris, 1898.

49. Jolly, *Comptes Rendus de la Soc. de Biologie*. 15 Julio 1910.

50. *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences de Paris*. 27 Diciembre 1914. Rapport de Magin a l'Acad., para otorgar a Becquerel el Premio Rufz de Lavison.

51. *Resultats scientifiques de l'expedition Shacketon*, por el Profesor Pervinquiere. «Revue Scientifique». 26 Febrero 1910.

52. E. Maupas, *Recherches esperimentelles sur la multiplication des Infusoires cilies*. Arch. Zool. Experim., 1888.

53. Miss Moody, *Journal of Morphology*, t. XXIII, fasc. 3. Septiembre, 1912.

54. Ch. Sedgwick Minot, *El desarrollo de la muerte*. Conferencia en la Universidad de Jena. Trad. Costa. Barcelona, 1914.

55. Metalnikoff, *Sur l'immortalité des Protozoaires*. Comptes Rendus de la Soc. de Biologie. París, 17 Febrero 1917.

56. Dastre, *La vie et la mort*. Bibliotheque de Philosophie Scientifique. París, 1903.

CAPÍTULO IV

MEDIOS DE OBSERVACIÓN

EL ULTRAMICROSCOPIO

En la materia inerte, el estado coloide es accidental; en la materia viva, esta forma de dispersión es tan esencial, que no se comprende su existencia, sin que sus componentes fundamentales dejen, de adoptar la estructura característica del estado coloidal; las materias albuminoideas, los amyloides, las zimasas, cuerpos grasos, los lipoides, los jabones, existen *in vivo*, en forma coloidal.

El estado coloide es esencial en la materia viva.

Aun cuando en el conjunto que forma la materia viva existen agrupados coloides y cristaloides, y la realidad es, que todos los componentes sustentan el proceso fisiológico, lo coloide es lo esencial, lo cristaloide lo accesorio, de tal modo que puede decirse que el secreto de la vida, reside en el estado coloidal. La vida, la enfermedad y la muerte, están en íntima relación con los fenómenos de ósmosis, de ionización, de presión osmótica, y eléctrica, de asimilación y desasimilación, de inmunización, en una palabra, el conjunto de fenómenos físico-químicos que definen la vida de la materia, tienen como base, acciones mutuas de iones y micelas, o de micelas ente sí.

Todos los fenómenos vitales, se verifican en medio acuoso; en ausencia del agua, no puede experimentar la materia, las transformaciones características de los fenómenos vitales; en este hecho donde los transformistas encuentran la ley de la persistencia del medio, el químico debe ver la necesidad de un medio de dispersión sin el cual, la materia no puede existir en las formas de dispersion, que necesita adoptar para que los fenómenos vita-

disponiendo de los microscopios mejor construídos y de mayor poder de amplificación. Este límite, se impone por la naturaleza de la luz y por la construcción de nuestro órgano visual.

Radiaciones solares.

Del sol llegan conjuntamente a la tierra, radiaciones distintas que el prisma (medio analizador), clasifica con arreglo a su longitud de onda, siendo una experiencia clásica de Física, el realizar esta clasificación, obteniendo el llamado espectro solar, en el cual se suceden los siete colores de luz simple, clasificados con arreglo a su refrangibilidad y caracterizados por su longitud de onda. Los menos refrangibles, que son los que menos se desvían de la dirección de los rayos solares antes de incidir en el prisma, son los de mayor longitud de onda, y forman el color rojo; los más refrangibles, son los de menor longitud de onda y son los que forman el color violeta; entre estos colores extremos, aparecen los otros cinco intermediarios. Nuestro ojo, solo percibe radiaciones cuya longitud de onda está comprendida entre 8000 Ä (*) (0,8 μ) y 4000 Ä (0,4 μ) que son respectivamente los valores límites correspondientes a los extremos rojo y violeta, de manera análoga, a como nuestro aparato de audición, solo percibe sonidos cuyo número de vibraciones por segundo está comprendido en 32 y 38000.

Espectros infra rojo y ultra violeta.

Pero no sólo llegan del sol a la tierra esas radiaciones que para nosotros son visibles, llegan mas; tantas, que las visibles son las menos: al lado del rojo, existe el espectro invisible denominado *infra rojo*, formado por radiaciones especialmente caloríficas, cuya existencia se comprueba por medio del bolómetro y cuya longitud de onda llega hasta 60000 Ä (60 μ) (Ruhens y Aschkinass) y del lado del violeta, forman el espectro llamado *ultravioleta*, radiaciones cuya longitud de onda llega hasta 1000 Ä (0,1 μ) (Schumann y Lyman) y que no son visibles, pero cuya existencia se revela por la acción que ejercen sobre las substancias fluorescentes (sulfato de quinina, esculina, platinocianuro de bario): estas radiaciones, ejercen una acción sumamente perjudicial sobre nuestra retina, que prácticamente se anula, porque actuando sobre el cristalino, le hacen fluorescente y transforma estas radiaciones de corta longitud de onda, en

(*) Ä, unidad Angström, es la diezmilésima parte del micron. μ = 10000 Ä

otras de longitud de onda mayor, cuyo efecto sobre la retina no es nocivo.

Stockausen y Schanz[1] han estudiado muy detalladamente este fenómeno y deducen, que de las radiaciones cuya longitud de onda está comprendida entre 0,4 y 0,35 μ, que llegan a la retina, las correspondientes a longitudes de onda comprendidas entre 0,35 μ, y 0,32 μ las absorbe el cristalino y las menores de 0,32 μ las absorbe la cornea.

Si nuestro ojo estuviera construido de modo que fuera sensible a todas las radiaciones, incluídas las infra rojas y las ultravioletas, para nosotros, a las noches sustituirían gigantescas auroras boreales de tintas multicolores y perpetuamente variables, producidas por ondulaciones eléctricas o por variaciones de temperatura[2]; los cables eléctricos, aparecerían envueltos en fuego en toda su longitud, etc., etc.; pero dejemos estas hipótesis fantásticas y volvamos a la realidad.

Por la naturaleza de la luz, y la teoría del microscopio, se deduce que de todo objeto cuyo diámetro sea un poco menor de 0,4 μ, mínima longitud de onda de las radiaciones visibles, no podemos observar su forma y la experiencia demuestra que si el diámetro es menor de un tercio de micra, no será visible, ni con ayuda de los mejores microscopios usuales.

Resulta de aquí, que con el microscopio ordinario, es imposible resolver el sistema heterogéneo que son las disoluciones coloidales, porque no son visibles las partículas dispersas, por ser su diámetro menor de 0,1 μ.

Formación de la imagen en el microscopio.

En óptica geométrica elemental, se estudia la formación de la imagen en los microscopios, suponiendo el objeto que se observa, formado por un conjunto de puntos luminosos en un plano, cada uno de los cuales envía rayos de luz, que propagándose en línea recta, penetran en el aparato, se refractan según las leyes de este fenómeno, y a cada punto del objeto, corresponde un punto que es su imagen, formando el conjunto de estos puntos, la imagen del objeto en un plano normal al eje del microscopio. Suponiendo formado el objeto que se observa por dos puntos luminosos, estos aparecerán en su imagen como dos puntos aislados y distintos, siempre que su distancia sea mayor que un límite que define el poder separador

del microscopio y que para los mejores aparatos, es aproximadamente 0,2 μ.

Fenómenos de difracción.

La teoría geométrica, no basta para conocer la formación de las imagenes, porque no tiene en cuenta el fenómeno de difraccion, que se produce simultaneamente con los de refracción, a que la teoría geométrica exclusivamente atiende.

Las ondas esféricas que parten del foco de iluminación, se modifican al propagarse al traves del objeto, variando su velocidad y su dirección, por consecuencia de los índices refractivos y de la forma del objeto, y produciendo fenómenos de difracción por los cuales, los rayos luminosos al salir de la preparación microscópica, no forman como cuando entran a iluminarlo, sistemas homocéntricos: parten de la preparación, con fases vibratorias distintas, interfieren entre sí, aquellos que son coherentes por tener un origen comun, produciendo una nueva distribución de luz, que se llama haz de rayos difractados.

Por consecuencia de la difracción, la imagen de un punto no es otro punto, sino una pequeña mancha luminosa, por lo cual, si los puntos luminosos se encuentran muy proximos, la imagen será confusa, de donde por el estudio de los fenómenos de difracción, se puede deducir el poder separador del microscopio, problema resuelto por Lord Rayleigh [3]. Los efectos de difraccion en el microscopio, se modifican empleando o luz de corta longitud de onda, o también objetivos de gran apertura numérica (aper. núm. $= n.$ sen α).

Observaciones microscópicas con radiaciones ultra violeta.

El uso de radiaciones de longitud de onda más corta, hace mas pequeña la distancia a que pueden suponerse colocados dos puntos, para que formen un sistema resoluble al microscopio y así aplicó en 1871 Castracane [4] las radiaciones violeta, para observar detalles de estructura de las diatomeas. Actualmente, se utilizan las radiaciones ultravioletas y microscopios, cuyo condensador y objetivos, se construyen con lentes de cuarzo fundido, y los oculares con delgados lentes de cristal de roca, recibiéndose la imagen sobre placas fotográficas. La teoría deduce, que con estas modificaciones del microscopio, pueden ser visibles objetos de tamaño aproximadamente mitad, que el que se marca como límite de visibilidad del microscopio ordinario.

Como la imagen formada con las radiaciones ultravioletas,

no es visible para el observador, hay en la práctica de este medio de observación, bastantes dificultades que vencer: el enfoque se verifica con un buscador que proyecta la imagen sobre una lámina de vidrio de urano fluorescente y después, se recoge en una placa fotográfica, que como es sabido, es más sensible que nuestra retina, impresionándose por estas radiaciones, de más pequeña longitud de onda que las de nuestro límite visual.

Los microscopios dispuestos para observaciones con luz ultravioleta, tienen mayor poder separador y con ellos se observan detalles y forma de objetos hasta de 0,2 μ de diámetro; su aplicacion a estudios morfológicos, tiene dificultades de técnica que vencer, pero se obtienen observaciones más precisas y de mayor valor que con el microscopio ordinario. Con la aplicación de radiaciones de longitud de onda menor que las visibles, se ha conseguido rebasar el límite de visibilidad y el poder de separacion de los microscopios: las radiaciones más empleadas, son las producidas por chispas eléctricas que se forman entre electrodos de hierro, de magnesio ($\lambda = 0{,}28$ μ) o de cadmio ($\lambda = 0{,}275$ μ) o por lámparas de mercurio en tubos de cuarzo. Köhler y Rohr describieron en 1904 un aparato completo microfotográfico, para radiaciones ultravioletas y con los aparatos construidos por la casa Zeiss, dieron unas conferencias en Octubre de 1900 sobre Microscopia científica, en la Universidad de Jena.

Como resumen de las ideas que muy concisamente acabamos de exponer, se deduce que el límite de visibilidad de objetos en el microscopio, está determinado por la naturaleza de las radiaciones que iluminan el objeto, y por la teoría confirmada prácticamente, del medio de observación.

Las micelas no pueden ser visibles al microscopio.

La materia en estado coloidal presenta un grado de dispersión tan elevado, que sus partículas (de 0,1 μ como máximo) tienen un tamaño menor que el límite de visibilidad del microscopio, aun utilizando las radiaciones que ha sido posible utilizar de más pequeña longitud de onda, de manera que observadas al microscopio, nada podremos deducir ni aun sobre la existencia y movimientos de éstas partículas; por esto, mientras de otro medio de observación no se ha dispuesto, el estudio del estado coloidal progresó poco. El ultramicroscopio y su aplicación al estudio de los sistemas coloidales, nos dió idea exacta sobre la

naturaleza de éstos sistemas, y abrió una nueva era a la investigación científica; desde entonces, han comenzado a desarrollarse nuevas ideas, sugeridas por el estudio de los coloides, que en Biología y en otras ramas del saber tienen gran importancia.

Principio del ultra microscopio.

El fundamento del ultramicroscopio, es sencillamente el clásico fenómeno de Tyndall (V. pág. 73) del que se derivó la clasificacion de los medios en ópticamente llenos y ópticamente vacíos. Cuando los medios que contengan en suspensión un cuerpo en estado coloidal se iluminan, si sus partículas se encuentran suficientemente alejadas, su imagen no podrá verse, por estar la partícula por su tamaño, fuera del límite de visibilidad, pero en el plano que a su imagen corresponda, aparecerá una mancha o una imagen de difracción de la partícula, que será visible, destacando del fondo, si tiene éste la pequeña cantidad de luz precisa, para que por contraste pueda ser visible la mancha de difracción producida: esta mancha de difracción, se forma, porque las partículas dispersas vivamente iluminadas, absorben luz, haciéndosen luminosas por sí mismas (efecto que puede compararse con el de los resonadores en acústica); la onda luminosa se modifica y los rayos derivados, forman alrededor de las partículas discos luminosos suficientemente grandes para poder ser observados al microscopio, siempre que por un artificio cualquiera, sé desvíe la luz que atravesó el medio de tal modo, que no llegue a penetrar en el tubo del microscopio, con lo cual obtendremos la visión microscópica sobre un fondo negro o tan oscurecido, que destaca la mancha de difracción que la partícula produce, pues unicamente penetran en el tubo e impresionan nuestro ojo, los rayos procedentes del disco de difracción, y así serán visibles para el observador, los movimientos de la partícula y obtendrá alguna idea sobre su forma, observando estos caracteres en la mancha de difracción que produce.

En su trabajo sobre la *difracción alejada*, Gouy estudia[5] de la manera que un objeto muy pequeño o el borde muy delgado de una pantalla, difracta la luz en direcciones muy alejadas de la dirección media de la luz que ilumina, y estos trabajos, encuentran aplicación en el estudio de la formación de la mancha de difracción, producida por las pequeñas partículas dispersas en una disolución coloidal.

Porque no son visibles las micelas en el microscopio.

En el microscopio ordinario, en el que toda la luz que ilumina la sección puesta en campo, penetra en el tubo, no es posible apreciar la diferencia de iluminación que se origina al difractarse la luz sobre las pequeñas partículas, es decir, que no son visibles los discos de difracción que se forman, porque la cantidad de luz que llega al ojo del observador, le ciega para apreciar estas pequeñas diferencias de intensidad luminosa. El fenómeno puede compararse con este otro perfectamente conocido: en pleno día, no podemos percibir los planetas ni las estrellas que están sobre nuestro horizonte, porque la gran cantidad de luz que invade la atmósfera, nos ciega para poder distinguir la pequeñísima variación de luz que corresponde a los pequeños discos luminosos que producen los planetas y estrellas: pero durante la noche, en atmósfera despejada, vemos en la bóveda celeste los astros situados sobre nuestro horizonte, con tanta mayor claridad, cuanto más oscuro aparezca el fondo del campo visual. Del mismo modo y por causa análoga, cuando miramos hacia una pared muy iluminada, no percibimos los polvos atmosféricos o pequeñas partículas sólidas dispersas en el aire, que al ser iluminados vivamente por los rayos directos del sol, se hacen visibles, pero en la cámara oscura o en habitación, mirando hacia una pared menos iluminada, estas partículas, vivamente iluminadas, son visibles.

Visibilidad de las partículas ultra microscópicas.

Cuando los rayos de luz llegan a las partículas opacas dispersas en un medio, se difractan en todos los sentidos apareciendo la partícula como un manantial de luz; la intensidad de los rayos difractados, disminuye a medida que las partículas se separan de la dirección de los rayos primitivos, y la cantidad de luz difractada aumenta con la opacidad de la partícula, estando además relacionada con la diferencia entre los índices de refracción del cuerpo disperso y del medio de dispersion. Aplicada a estas pequeñas partículas la teoría de Lord Rayleigh, en la que establece que la amplitud de las vibraciones de la luz difractada, es proporcional al tamaño de la partícula que produce la difracción, se deduce que la intensidad de luz enviada por cada partícula, será proporcional al cuadrado de su volumen (Siedentopf), así que las manchas de difraccion que las partículas producen, serán tanto más fácilmente visibles, cuanto mayor sea el tamaño

real de la partícula y habrá un límite de visibilidad determinado por el diámetro de las partículas y la intensidad luminosa del medio de iluminación. Este límite de visibilidad ha sido fijado en 0,001 μ para la luz solar, con los mejores medios de observación de que se dispone actualmente.

Clasificación de las partículas dispersas.

Las partículas dispersas en un sistema, pueden ser pues *submicroscópicas*, si por su tamaño (mayor de 0,3 μ) pueden hacerse visibles con ayuda del microscopio ordinario; *ultramicroscópicas*, si con el ultramicroscopio nos damos cuenta de su existencia, y *amicroscópicas*, si por su pequeño diámetro, no se hacen visibles con estos medios de observación. Zsigmondy representa esta misma clasificación con los nombres de submicrones, ultramicrones y amicrones.

El ultramicroscopio ha sido construído como consecuencia de los trabajos de Tyndall, Azcan y Ambron: Spring, fué el primero que tuvo la idea de aplicar la experiencia de Tyndall al estudio de los vidrios de oro, confirmando experimentalmente [6], la idea expuesta por Faraday en 1857, de que «los vidrios de oro, deben contener el metal en partículas muy pequeñas diseminadas en el vidrio, porque cuando le atraviesa un haz de luz muy intenso, difunde la luz, como lo haría un líquido turbio.

Los trabajos de Zsigmondy sobre los hidrosoles de oro, conducen a consecuencia análoga, o sea a que en ellos se encuentra el metal dividido en muy pequeñas partículas, cuyo tamaño «debe ser inferior a la menor longitud de onda luminosa, pues con el microscopio ordinario, montado con los mejores medios de amplificación, no son visibles». Operó este investigador, con un microscopio de pequeño aumento, iluminado por un haz de rayos solares, que dispuestos horizontalmente por medio de un espejo, los concentraba con una lente en cuyo foco colocaba la preparación líquida a observar.

Primer aparato ultramicroscópico de Siedentopf y Zsigmondy.

La visibilidad de las partículas ultramicroscópicas, pudo ser posible, gracias a los trabajos de Siedentopf y Zsigmondy, cuando idearon su aparato de iluminación lateral, cuyo fundamento consiste [7], en hacer penetrar una luz muy intensa en el objeto que se estudia, en dirección perpendicular al eje del microscopio (iluminación lateral) y condensada, para disponer los rayos luminosos en dirección a un punto, que es el que con el microscopio

se observa. Los rayos luminosos de iluminación directa, siguen en trayectoria rectilínea, no penetran en el tubo del microscopio, y así son visibles para el observador, las manchas de difracción que se forman en el plano de enfoque, al incidir la luz sobre las partículas dispersas [8]. La fig. 14 da idea de esta disposición, en la que los rayos luminosos de iluminación, se representan por trazos llenos y los de luz difractada por líneas de puntos, siendo el punto *A* la partícula que se trata de estudiar.

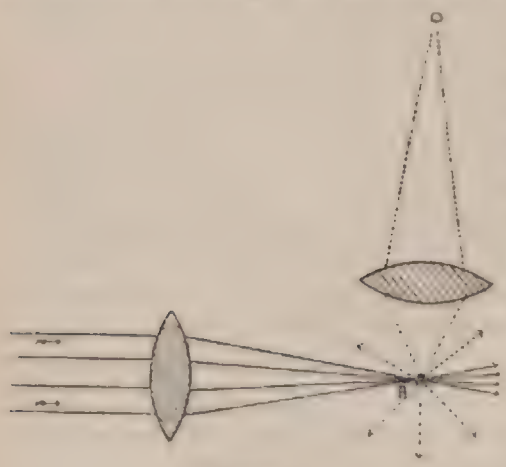


Figura 14

Dispositivo ideado por Cotton y Mouton.

Los primeros aparatos de iluminación lateral comenzaron a construirse en 1903 por la casa Zeiss de Jena que publicó su descripción. Cotton y Mouton, repitiendo las experiencias de Siedentopf y Zsigmondy imaginaron otro aparato de construccion diferente[9] con el que realizaron las condiciones necesarias para hacer visibles las partículas ultramicroscópicas, dispersas en medios líquidos, haciendo la preparación, como se hace de ordinario entre un porta y un cubre objetos. La fig. 15 da idea de esta disposición; los rayos luminosos suficientemente oblicuos, y condensados por una lente *L*, inciden en un bloque de vidrio *ABCD*, tallado en forma de paralelepípedo oblicuo de base rectangular, de un centímetro de espesor cuyas caras oblicuas, forman un ángulo de 51°, sobre este bloque, se

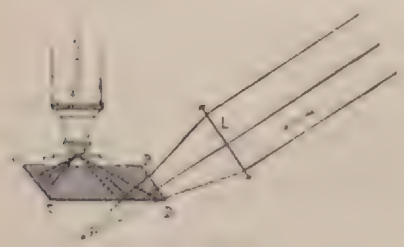


Figura 15

coloca la preparación, con intermedio de una gota de aceite de cedro; el sistema así formado, se coloca sobre la platina. La luz incide sobre la cara oblícua *B D*, en haz cuyo eje sea normal a ésta cara y sufre una reflexión total sobre la cara *CD*; los rayos de luz, atravesando el bloque de vidrio y la preparación, sufren al salir al aire una nueva reflexión total, que les hace penetrar de nuevo en el vidrio y asi no entran en el microscopio, consiguiéndose de este modo, que solo penetren en el tubo del microscopio, los rayos de luz difractados en las partículas dispersas en la preparación.

Puccianti y Vigezzi [10] montan la preparación sobre la cara hipotenusa de un prisma rectángulo de reflexión total, construído en vidrio; iluminan oblicuamente por debajo de la platina, y resuelven así de manera parecida a la de Cotton y Monton, el problema de hacer visibles las manchas de difracción producidas por las partículas ultramicroscópicas.

Observaciones en fondo negro.

Para observar las preparaciones microscópicas, tal como de ordinario se preparan, Siedentopf, ideó [11] un nuevo medio de investigación que es una modificación de los procedimientos que ya se utilizaban para observar sobre fondo negro, evitando la entrada en el microscopio de los rayos de iluminación, con lo cual, podían observarse, pequeños objetos que no son visibles cuando se ilumina por transparencia [12]. La modificación de Siedentopf; realiza la posibilidad de observar en fondo negro, cosa que antes se hacía de una manera muy imperfecta, diafragmando centralmente el objetivo de observación, e iluminando por medio de un condensador especial que viene a ser un objetivo especialmente corregido [13].

Figura 16

Para observar con fondo negro en el microscopio ordinario de aparato condensación Abbe, utilizamos muchas veces un diafragma de papel negro cuya forma representa la fig. 16 y que colocamos entre las dos lentes del condensador ordinario de Abbe, que en este caso se usa como condensador de inmersión. El Sr. Castellarnau [14] aconseja esta sencilla disposición para observaciones en fondo negro, colocando en la platina de los

diafragmas, un disco circular para impedir el paso de la luz central (fig. 17) de modo que no pasan a iluminar la preparación, más rayos luminosos que los que penetran por el anillo que se forma entre este disco y el borde de la abertura máxima del diafragma. El diámetro del disco (unos 24 mm. para condensador de apertura numérica 1,4), debe ser suficientemente grande, para que los rayos luminosos que pasan por el anillo iluminante, sean reflejados al llegar a la cara superior del cubre objeto y así ninguno de ellos podrá penetrar por el objetivo, donde solo penetran los rayos difractados por las partículas de la preparación.

Figura 17

Diferentes casas constructoras de microscopios, construyen varios modelos de condensadores, que resuelven la condición precisa para obtener el ultramicroscopio, o sea que los rayos de iluminación no penetren en el aparato, con lo cual se consigue un fondo negro, no llegando hasta el ojo del observador, más que los rayos de luz difractada por las pequeñas partículas o por los objetos de la preparación. No vamos a hacer catálogo de las distintas disposiciones que se construyen, nos limitaremos a dar idea, de los condensadores parabólico y cardioide que construye la casa Zeiss, porque estos dos y el disco de papel negro a que ya nos hemos referido, son los que venimos utilizando para nuestras investigaciones.

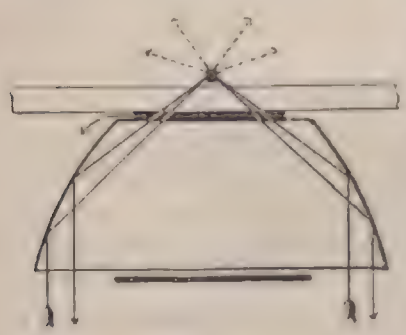


Figura 18

Condensador parabólico.

El condensador parabólico[15], ideado por Siedentopf, se coloca en los microscopios sustituyendo al condensador ordinario de Abbe, para lo cual le construyen con montura metálica apropiada a este fin. La fig. 18 representa en esquema este condensador y la marcha de los rayos luminosos. Por la parte infe-

rior del condensador, penetran solamente los rayos luminosos de abertura numérica mayor de 1,1 porque el diafragma *B* (un espejo de plata) impide el paso de los de menor abertura numérica: los rayos que iluminan, sufren la reflexión total cuando llegan a la cara superior del cubre objetos y así no penetran en el microscopio. El condensador, es un trozo de vidrio plano convexo, cuya superficie lateral es un paraboloide de revolución, cuyo foco coincide con la cara superior del porta objetos: entre el condensador y el porta objetos, se coloca un líquido de inmersión, agua o aceite de cedro, mejor este último, evitando que aprisione la más pequeña burbuja de aire, porque produciría en la observación un fondo iluminado. Estos condensadores, exigen un espesor de porta objetos determinado (de 1,1 a 1,2 mm.), para obtener las imágenes en las mejores condiciones.

Condensador cardioide.

Especialmente dedicado al estudio de los sistemas coloidales líquidos, construye la casa Zeiss [16], el denominado condensador cardiode, construído según ideas de Siedentopf [17]. La construcción de este aparato, está fundada en la propiedad de la superficie cardioide, de reunir en el foco libres de aberraciones y aplanáticamente, todos los rayos de un haz luminoso de divergencia finita: los rayos paralelos, que salen verticalmente del espejo plano de iluminación del microscopio, se concentran con precisión en un solo punto, cuando sufren dos reflexiones sucesivas, la primera sobre una superficie esférica y la segunda sobre la cara cóncava de una superficie cardioide. (Fig 19).

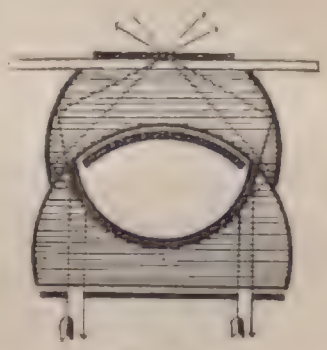


Figura 19

En el condensador cardioide que usamos, como en todos los que con este nombre se construyen, la superficie cardioide es sustituida por una superficie esférica, por lo cual, la concentración que prácticamente se obtiene de los rayos luminosos, no es rigurosamente aplanática, siendo limitado el número de rayos que se reunen en un punto: esto constituye realmente una imperfección del sistema ideado por Siedentopf, pero las diferencias

que se obtienen son tan pequeñas, que pueden tolerarse, y se hace así, porque en la práctica, hay gran dificultad para tallar una superficie cardioide, y ello aumentaría mucho el precio del aparato. El nombre de cardioide con que se designa este condensador, no significa pues otra cosa, que el recuerdo de la idea fundamental que tuvo Siedentopf para construirlo.

El manejo del condensador cardioide, presenta más dificultades que el de otros condensadores de uso corriente, pero vencidas fácilmente en los primeros días de trabajo, se maneja después con la misma facilidad que cualquier otro condensador construído para fines análogos. Estas dificultades, se deben en parte a la necesidad de centrar exactamente el objetivo, pues es preciso que coincidan los focos del sistema de observación y de iluminación: prácticamente se resuelve esta dificultad, adaptando al tubo del microscopio y al objetivo, un sencillo mecanismo para centrar, que los mismos constructores facilitan. Además es indispensable que el porta objetos sobre el que se hace la preparación, tenga un espesor determinado que expresamente va indicado en el estuche del condensador, y la preparación no debe tener más grueso, que la profundidad del objetivo que se utiliza. Los rayos luminosos emergentes de este condensador, tienen una abertura numérica mayor que la unidad, por lo cual es preciso para que puedan salir hacia el porta objetos, un líquido de inmersión, que debe ser el agua destilada, colocado entre la cara superior del condensador y la inferior del porta objetos; el fijar el grueso de esta capa de inmersión, para cada caso, es detalle de mucha importancia para la iluminación y formación del fondo negro en el campo del ultramicroscopio.

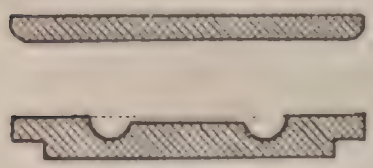


Figura 20

Cámaras de cuarzo.

Para facilitar el manejo del condensador cardioide, construye la casa Zeiss unas cámaras de cuarzo y un objetivo especial apocromático, $f = 3$ mm. $A.\ n.$ 0,9, especialmente corregido para el objeto a que se dedica y provisto de un diafragma, que reduce la abertura numérica, hasta 0,85, con lo cual se obtienen mejores imágenes y mayor contraste. La fig. 20 representa el porta y cubre objetos en cuarzo fundido que forman estas cáma-

en el espejo de iluminación del microscopio: en el camino de estos rayos, interponemos una esfera de vidrio (un matraz) llena de disolución de alumbre ordinario, que ayuda a la concentración de los rayos luminosos y los enfría por sus propiedades atermanas. Este medio de iluminacion tiene sobre el arco, la ventaja de su constancia en la intensidad y en la dirección de los rayos, lo cual facilita mucho la obtención de fotografías con exposición.

Para obtener fotografías instantáneas, o cintas cinematográ-

Figura 22

ficas, ésta luz no basta ni aun con lámparas de 2000 bujías y precisa emplear el arco con electrodos de carbón y con la intensidad correspondiente a 25 a 50 amperios, según la naturaleza de la preparación; las pequeñas partículas, tales como micelas de plata por ejemplo, para impresionar cintas cinematográficas, a dos fotografías por segundo, requieren ser iluminadas por arco de 40-50 amperios; las gruesas partículas o los pequeños objetos, pueden iluminarse con arcos de 25-30 *A*, y obtener así, 4 a 5 fotografías por segundo. Las dificultades prácticas que se encuentran, se derivan de la variable dirección de los rayos luminosos por el consumo de los carbones, pero fácilmente se consigue vencerlas.

Disposición del aparato que empleamos.

La figura 22 representa el conjunto de la disposición que empleamos en nuestras observaciones ultramicroscópicas, en el que aparece la lámpara nitra, la condensación seca que dispone los rayos luminosos en haz convergente, la condensación producida por la disolución de alumbre, que llena una vasija esférica y por último una lente plano convexa, que concentra los rayos luminosos sobre el espejo de iluminación del ultramicroscopio. Delante de la platina colocamos una pantalla vertical, para evitar que lleguen a la preparación rayos extraños.

Para estudiar con ayuda del ultramicroscopio los dispersoides, pueden utilizarse muy variados medios de dispersión, pero como dirigimos nuestros estudios al de la materia viva, hemos utilizado siempre el agua como medio intermicelar, ya que este, es el dispersante que en los organismos se encuentra.

Agua ópticamente vacía.

El agua medio de dispersión que utilizamos para obtener los sistemas coloidales que hemos de estudiar, precisa que sea *ópticamente vacía*, pues de ordinario contiene partículas en suspensión, que fácilmente nos inducirían a error, al referir sus propiedades a las de las dispersas en el coloide que observamos. Para obtener el agua exenta de partículas en suspensión, varios investigadores (Spring, Lobry de Bruyn, Biltz), han indicado diversos procedimientos fundados en una perfecta filtración por bujías de porcelana sin barnizar, o en producir en el agua la formación de un hidróxido coloidal mediante la acción del hidróxido de sodio, por ejemplo, sobre una sal soluble de hierro, de cinc o de aluminio, adicionada al agua: al depositarse el gel correspondiente, arrastra las partículas que el agua tuviera en suspensión, pero este método tiene el inconveniente, de dejar siempre dispersos en el agua algunos iones, que ejercerán su influencia sobre el coloide que después produzcamos.

Nos parece preferible, si tratamos por formación de un gel de quitar al agua las partículas en suspensión, operar con hidróxido férrico coloidal del modo siguiente: Por ebullición de una disolución acuosa diluída (muy hidrolizada) de acetato férrico, el ácido acético se volatiliza y queda disperso hidróxido férrico, exento de iones, si la ebullición fué muy prolongada. Esta disolución coloidal, se añade a un volumen mayor de agua recién destilada y se espera la precipitación en

forma de gel del hidróxido de hierro, que se realiza al cabo de unos días.

Operando con agua ópticamente vacía, hemos podido convencernos, de que la dificultad no está solo en obtenerla, sino en conservarla pues el aire que entra en las vasijas deposita en el agua las partículas que lleva en suspensión, a las que se suman las adheridas a las paredes de la vasija.

Como se obtiene y conserva agua ópticamente vacía.

El problema de obtener agua ópticamente vacía, prácticamente exenta de iones extraños y bien conservada, lo resolvemos del modo siguiente: modificamos a la lámpara un frasco lavador Clöez del modo que indica la fig. 23 y después de bien limpio, lo lavamos con vapor de agua a 120° en el autoclave para arrastrar las partículas adheridas a las paredes. Se llena este frasco con agua recientemente bidestilada y en el tubo de insuflación de aire, colocamos un tapón de algodón hidrófilo: en la práctica, tirando siempre antes de usar este agua, la gota que queda retenida en el pico, empleamos agua que prácticamente está exenta de partículas, con ella hacemos las dispersiones y de ella tomamos siempre la gota que se emplea para la inmersión con el condensador cardioide.

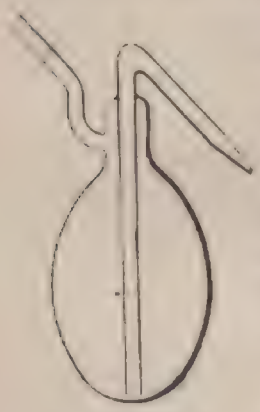


Figura 23

No creemos que todos estos detalles para la obtención del agua medio de dispersión, tengan la poca importancia que se deduce de las observaciones de Biltz [18], que afirma que el agua recien destilada contiene solamente 10.000 partículas en suspensión por milímetro cúbico, de lo que resulta que un campo microscópico de 100 μ de lado y 10 μ de profundidad, solo contendría una. La práctica enseña que esta causa de error tiene mas importancia, aparte de que no siempre se dispone de agua recién destilada: creemos que la solución que hemos dado a este asunto, resuelve el problema de manera cómoda y bastante segura.

Teniendo ya el medio de dispersión, se practica la obtención de sistemas coloidales por alguno de los métodos que en líneas

Observación ultramicroscópica de dispersoides albuminoideos.

generales hemos expuesto, pero para nuestro objeto tiene especial interés, la obtención de hidrosoles orgánicos que como los de la mayoría de las materias albuminoideas, se obtienen simplemente poniendo en contacto del agua, el cuerpo que se quiere dispersar: estas dispersiones las suponemos hechas principalmente con el objeto de su estudio ultramicroscópico y esto presenta alguna dificultad, en operación al parecer tan sencilla.

La observación ultramicroscópica de los dispersoides albuminoideos, presenta realmente algunas dificultades porque la micela albuminoidea, por su pequeño diámetro, produce manchas de difracción muy poco iluminadas y además para las radiaciones visibles del espectro, son muy semejantes las propiedades del agua y las de los compuestos albuminoideos, por lo cual, la micela es demasiado transparente al agua y no destaca bien cuando está aislada, que es el caso que nos interesa. Indudablemente por estas causas, afirman Cotton y Mouton [19] que las disoluciones de albúmina, «difunden mal la luz y no se prestan al examen ultramicroscópico». Estos autores salvan la dificultad, calentando las disoluciones albuminoideas, hasta que aparece la opalescencia y entonces presentan al ultramicroscopio gránulos muy numerosos; así han operado Much, Römer y Siebert [20] para reconocer la albúmina en las orinas y del mismo modo Gastou [21].

Pero lo que observan salvando por la acción del calor las dificultades de la observación, *no es el hidrosol de albúmina, sino el hidrogel*, o lo que es peor todavía, una mezcla indefinida de hidrosol e hidrogel, que ninguno de estos dos estados permite estudiar de una manera satisfactoria; *la técnica propuesta, no resuelve la dificultad*, quedando sin estudiar el sistema coloidal albuminoideo.

Modo de preparar dispersoides albuminoideos.

Hemos tratado de vencer las dificultades que realmente presenta la observación ultramicroscópica de las dispersiones albuminoideas y fácilmente se consigue esto, si se obtiene una buena dispersión, con la menor cantidad posible de aglomeraciones micelares y se dispone de buena iluminación, utilizándose con preferencia a otros, el condensador cardioide y las cámaras de cuarzo. Operamos del modo siguiente: En un tubo de ensayos escrupulosamente limpio, se pone en presencia del agua el

compuesto albuminoideo y se filtra, evitando en lo posible la acción del aire: esta filtración, la realizamos en unos tubos filtros de unos 30 cm. de long. (fig. 24) afilados en punta, y provistos de un estirón que sostiene la masa filtrante que es de celulosa (pasta de papel), bien lavada con ácido clorhídrico diluído y después con agua: la altura de masa filtrante varía según los casos, y montado el aparato en un frasco, como indica la figura, se puede activar la filtración por medio de la trompa. Antes de usar el filtro, se hace pasar agua ópticamente vacía; la preparación ultramicroscópica, se monta tomando para observar una gota de la punta del tubo filtro. Practicando esta filtración tan sencilla, las aglomeraciones micelares quedan retenidas, y no apareciendo en el campo ultramicroscópico, son perfectamente visibles las micelas albuminoideas aisladas: las aglomeraciones, por su mayor tamaño, aparecen muy iluminadas, deslumbran y no dejan observar la micela aislada. Esto comprueba la teoría de lord Rayleich, que puede aplicarse a este caso, en virtud de la cual, la amplitud de las vibraciones de la luz difractada, es proporcional al tamaño de las partículas [22], o mejor, al cuadrado de su volumen. Si se trata como en el caso presente, de varias partículas aglomeradas, siendo v el volumen de cada una y n su número, la cantidad de luz emitida es proporcional a $n\,v^2$.

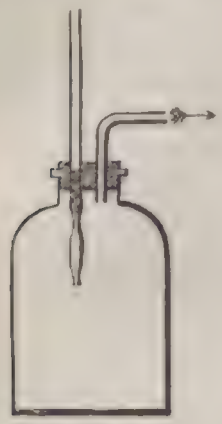


Figura 24

Figura 25

De este modo, tenemos en observación hidrosoles de albúminas y los veremos constituídos por micelas que gozan de todas las propiedades que al estado coloidal corresponden, entre

las cuales son muy frecuentes las aglomeraciones, que si son producidas por pocas micelas, se mueven en conjunto con movimiento browniano y además individualmente; en cada pequeña aglomeración se las ve resbalar lentamente las unas sobre las otras. La fig. 25 representa el aspecto ultramicroscópico de un hidrosol de albúmina, obtenido según la técnica que dejamos expuesta.

Ultramicroscopio y materias colorantes.

Entre los estudios realizados sobre coloides orgánicos, con ayuda del ultramicroscopio, tienen particular interés, los hechos por Michaelis[23] sobre las disoluciones coloidales de algunas materias colorantes, de las que se emplean en micrografía, encontrando la importante consecuencia, de que las soluciones no resolubles al ultramicroscopio, o más difícilmente resolubles, presentan más marcadas, las propiedades electivas y los más fácilmente resolubles, son los colorantes más difusos. Modificando el medio de dispersión, varía como es natural el grado de resolución del sistema y coincide con este cambio, el grado de electividad del colorante. Probablemente, será debida a la naturaleza coloidal de estos colores, las modificaciones a que los someten los histólogos, añadiendo, según los casos, cuerpos de reacción débilmente ácida o alcalina (fenol o anilina); estas variaciones del grado coloidal, según estos trabajos, son las modificaciones que prácticamente se denominan *maduración* del color.

Ultramicroscopio y enzymoides.

La observación ultramicroscópica de los coloides que se encuentran repartidos por los organismos vivos, se presta especialmente para interpretación de multitud de fenómenos bioquímicos: ejemplo, los realizados por Dujardin Beaumetz[24] estudiando la acción diferencial en el campo ultramicroscópico de cultivos de peripneumonía de los bóvidos (libres de elementos figurados), sobre sueros de bueyes atacados o no de esta enfermedad; estas investigaciones sugieren la idea de realizar otras, análogamente dirigidas al estudio de las acciones de toxinas y antitoxinas, la formación de precipitinas, etc.

Las propiedades que presentan los sueros de los animales inyectados con caldos de cultivo que contengan elementos figurados, de aglutinar a éstos (aglutininas), así como la aptitud de los sueros para destruir glóbulos rojos (acciones hemolíticas), afirman el carácter coloidal de estos sistemas, y el ultramicros-

copio habrá de ser un poderoso auxiliar para este género de investigaciones. Bitz, relaciona con el fenómeno de partición de un hidrosol (azul de metileno) entre una materia textil (la seda por ejemplo) y el líquido[25], con la partición de las aglutininas entre las bacterias y el líquido ambiente. La aglutinación de las bacterias, podrá relacionarse con la coagulación que producen las precipitinas; el estudio ultramicroscópico de la aglutinación, puede utilizarse en el diagnóstico de varias infecciones, por ejemplo, en el de la fiebre tifoidea.

Por otra parte, el estudio de la acción de electrolitos sobre los sistemas coloidales, encuentra aplicación para interpretar la activación de las aglutininas en presencia de las sales[26] (Neisser y Friedemann) y en conjunto, para no citar más fenómenos de esta naturaleza, el convertir en resolubles los sistemas antes irresolubles de muchas dispersiones albuminoideas, abre ancho campo al ultramicroscopio como medio de observación, para el estudio de multitud de interesantísimos fenómenos bioquímicos.

Ultramicroscopio y elementos figurados.

Para la observación de elementos figurados, el ultramicroscopio debe sustituir en muchos casos al microscopio, porque se aprecian con él directamente y en vivo, detalles de estructura que con el microscopio solo se observan, previa coloración que significa la muerte del microbio, de donde se deduce que se refieren a células vivas, detalles de forma que solo se observan en células muertas y son estas, dos cosas bien distintas. Los flagelos de los infusorios, los *paramecium*, por ejemplo, los de *azotobacter agilis*, etc., se observan perfectamente en el microrganismo vivo, pudiendo estudiarse sus movimientos, etc., etc.

Estudio ultramicroscópico de la sangre.

Los más recientes estudios sobre la sangre, hechos con ayuda del ultramicroscopio, permiten observar el mecanismo y la velocidad de la coagulación, los leucocitos y células diversas, los elementos extraños, parásitos y pseudo parásitos, aparte los estudios de suerodiagnóstico. El estudio de los leucocitos mono y polinucleares que inició Davis[28] reconociendo granulaciones móviles; el de las granulaciones de naturaleza coloidal (hemoconías) y el reconocimiento de cristales, etc., etc., presenta la sangre constituída esquemáticamente, como la materia viva, por un

medio de dispersión acuoso salino que contiene dispersos coloides y cristaloides.

El diagnóstico clínico y el ultramicroscopio.

El diagnóstico de la sífilis por investigación ultramicroscópica del *spirochete pallida* (Schaudinn) del que no se conoce como para el bacilo de Koch, por ejemplo, coloración específica, puede hacerse con ciertos detalles de técnica [21] observando el microbio en vivo y diferenciándole de otros *spirochetes* que se encuentran en las mucosas o en la sangre.

Los microbios patógenos que por su pequeño tamaño escapan a la observación microscópica, pueden reconocerse con el ultramicroscopio previa su separación de otros elementos figurados, por medio de la bujía Berkefeld con los detalles de técnica pertinentes a este caso. Remlinger ha dado cuenta de estos métodos [27] para la investigación de los microbios patógenos ultramicroscópicos.

Observación de microbios ultramicroscópicos.

Algunas veces la observación microscópica se dificulta, porque el elemento figurado posee tal refrangibilidad, que resulta en su medio líquido perfectamente transparente: esto lo hemos observado así, en las bacterias de putrefacción que infectan las dispersiones de albúminas, cuando quedan en contacto del aire durante algunas horas: la aparición de estas bacterias, dificulta por su gran luminosidad al ultramicroscopio, la observación de los coloides albuminoideos y por esto no utilizamos la dialisis sino los filtros de que hemos hablado, para hacer cuando asi ha convenido la separación de iones y micelas. Cultivamos estas bacterias en caldos albuminoideos manitados, y obtuvimos las correspondientes colonias sobre gelosa, observando después en estas bacterias un cambio tan manifiesto, que resultaban visibles al microscopio ordinario: esto suponemos que será debido a un cambio de refrangibilidad, pues para explicarlo de otro modo, habría que recurrir a hipótesis muy discutidas, y no tenemos datos experimentales suficientes para esta digresión.

Algunos autores indican que los microbios ultramicroscópicos se confunden fácilmente con las pequeñas partículas dispersas en el mismo líquido, dotadas de movimiento browniano, y aún afirman que pueden confundirse unos elementos con otros por la semejanza de movimientos. Estas dificultades no las reconocemos, pues si el observador, conoce por estudio directo, no

por referencias, el movimiento browniano, aún con toda su irregularidad, no le confundirá nunca con el movimiento de las pequeñas bacterias; las dificultades indicadas, tienen su origen no en el medio de investigación, sino en la práctica del observador.

Las indicaciones hechas, son suficientes para establecer la gran importancia del ultramicroscopio como medio de investigación y ello basta a nuestro objeto.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. Stockhausen y Schanz, *Revue Scientifique*, París 21 de Agosto de 1909.
2. Nogier, *Les rayons ultraviolets*. Conferencia de «La Tecnique moderne», París, Junio 1910.
3. Lord Rayleigh, *Jour. of the Royal Micr. Soc.*, p. 447, 1903.
4. Castracane, *Rendiconti Accad. Lincei*, t. XXIV.
5. Gouy, *Ann. Chim. et Phys.*, 6 s., t. VIII, p. 145, 1886.
6. Spring, *Bull. Acad. Roy. Belg.*, t. XXXVII, p. 300, 1899.
7. Siedentopf y Zsigmondy, *Drude's Annalen*, t. X, p. 1, 1903.
8. R. Zsigmondy, *Zur Erkenntnis der Kolloide*. Jena, 1905.
9. Cotton y Mouton, *Comp. Rendus de l'Acad. des S. de Paris*, t. CXXXVI, p. 1657. Junio 1903.
Revue générale des Sciences, t. XIV, p. 1184, 1903.
10. Pucciani y Vigezzi, *Arch. di Fisiologia*, t. XII, p. 318, 1904.
11. Siedentopf, *Journ. of the Royal Micr. Soc.*, Octubre, 1903.
12. Carpenter, *Traité du microscope*.
13. Zeiss, Jena Micro, n.º 164, 1904.
14. J. M. Castellarnau, *Teoría general de la formación de la imagen en el microscopio*, p. 115. Madrid, 1911.
15. Zeiss, Jena Micro, n.º 260, 1910.
16. Zeiss, Jena Micro, n.º 306, 1910.
17. Siedentopf, *Uber einen neuen Fortschritt in der Ultramikroskopie Verhandl, Deutsch. physic. Ges.*, 12-6-46, 1910.
18. Biltz, *Göttinger Nachrichten math-phys. Klasse*, 1904.
19. Cotton y Mouton, *Les ultramicroscopes. Les objets ultramicroscopiques*, p. 209. París, 1906.
20. Much, Römer y Siebert, *Zeits, f. diät und physik Therapie*, t. VIII, p. 19 y 94, 1904.
21. P. Gaston, *L' ultramicroscope dans le diagnostic clinique*, 2.ª edic., p. 58. París, 1912.

22. Lord Rayleich, *Philos. Magaz*, t. XLI, p. 107, 274, 447, año 1871; t. XLVII, p. 375, año 1899.

23. Michaelis, *Virchows. Archiv.*, t. CLXXIX, p. 195, 1905.

24. Dujardin Beaumetz, *Annales Inst. Pasteur*, t. XX, p. 465 año 1906.

25. Biltz, *Zeitscher f. physik chem.*, t. XLVIII, p. 618, 1904.

26. Neisser y Friedemann, *Munch. mediz. Woch.*, n.º 19, 1904.

27. Remlinger *Microbes pathogènes ultramicroscopiques* «Bull. de l' Inst. Pasteur», t. IV, p. 337-385, 1906.

28. Davis, *Bull. Inst. Pasteur*, t. XLIII, p. 700, 1905.

CAPÍTULO V

MOVIMIENTO BROWNIANO

La agitación molecular que la teoría cinética deduce para la materia gaseosa y líquida, se admite hoy sin reserva alguna: las moléculas, unidades físicas de la materia, forman los gases y los líquidos, residiendo en ellos, no en estado de reposo aparente, sino en estado de movimiento constante que parcialmente representa, la enorme cantidad de energía que posee la materia; así puede explicarse, según hemos indicado ya, la expansibilidad de los gases, las presiones que los cuerpos en este estado físico ejercen sobre las paredes de las vasijas que los contienen, las sencillas leyes que los definen, etc., etc., la presión osmótica de las disoluciones y otros muchos fenómenos, que en la materia en estado líquido se estudian.

Las moléculas de los cuerpos no están en reposo.

La materia viva, es un sistema disperso muy complejo, en sus aspectos físico y químico, según se deduce de las ideas expuestas en los capítulos anteriores; en este sistema, ha de ejercer influencia, la energía cinética que se manifiesta por la agitación de las moléculas del medio de dispersión, y para estudiar este asunto, será buen método, el conocer en primer término, cual es el efecto que en sistemas análogos, pero de más sencilla constitución física y química, ejerce esa agitación molecular, tomaremos pues en primer término como objeto de estudio, sistemas dispersos en los que el medio de dispersión sea agua pura, y la materia dispersa, una materia determinada a diverso grado de dispersión, formando bien suspensiones o emulsiones, o bien sistemas coloidales.

La agitación molecular de los medios de dispersión, es claro que no puede ser visible directamente: ni el grado de perfección de nuestros sentidos, ni el de los actuales medios de investiga-

ción, ni la máxima intensidad luminosa de que podemos disponer, alcanzan a hacer visibles las moléculas de los cuerpos y por lo tanto, su movimiento constante; directamente, las moléculas de un líquido o de un gas en equilibrio, nos parecen inmóviles, pero indirectamente podemos darnos cuenta de la efectividad de su movimiento, por el que poseen las pequeñas partículas que en esos medios se encuentren dispersas, siempre que sean estas suficientemente pequeñas, para formar un sistema disperso en equilibrio y esto ya es posible.

Primeras observaciones de la agitación de las pequeñas partículas dispersas.

El botánico Roberto Brown observó en el año 1827, cuando comenzaron a usarse los objetivos microscópicos apocromáticos, que si el agua tiene en suspensión pequeñas partículas, estas en vez de ir al fondo o a la superficie del líquido, según su densidad, se encuentran repartidas en el líquido y animadas de un movimiento vivo y desordenado, en virtud del cual no tienen momento de reposo. Este movimiento, que en honor a Brown, su descubridor, se denomina *movimiento browniano*, fué ya conocido (segunda mitad del siglo XVIII) por Bufon y Spallanzani [1], pero por falta de medios de investigación no pudieron estudiarlo.

En las suspensiones y emulsiones, en la mayoría de los casos, este movimiento puede estudiarse con ayuda del microscopio ordinario, pero en los sistemas coloidales, solo puede estudiarse con ayuda del ultramicroscopio, siempre que la iluminación sea suficiente, y el tamaño de la partícula no menor que el límite de visibilidad de la mancha de difracción, que en el ultramicroscopio produce.

El movimiento browniano, parece una representación del movimiento espontáneo, que para algunos es la característica de la vida: el sistema en conjunto en que se observa, «se mueve a sí mismo» (Aristóteles) por una fuerza que reside en el mismo sistema y así este fenómeno habrá de modificar el concepto que algunos tienen de la vida, porque no vamos a considerar como seres vivientes, los sistemas dispersos en que observamos esta forma de movimiento.

Ideas sobre la causa del movimiento browniano.

Para explicar la causa del movimiento browniano, se han expuesto muchas ideas que no tiene objeto alguno repetir aquí. Mensbrugghe [2] compara el movimiento browniano con la agitación de los pequeños gránulos de alcanfor en la superficie del

agua; Jevons [3], considera como principal factor de este fenómeno, la carga eléctrica de las partículas. Muy recientemente, Pöschl [4] considera que por su tamaño, las partículas dispersas en las dispersiones y dispersoides, son suficientemente voluminosas para que su peso tenga acción eficaz contra la viscosidad del medio que tiende a retener la partícula, resultando que la viscosidad y el peso, se disputan, por decirlo así, la posesión de la partícula y por ello, esta se mueve alrededor de una posición media fija, de donde resulta el movimiento browniano. No tiene en cuenta Pöschl la acción cinética del medio de dispersión que indudablemente, debe por lo menos ejercer su acción, sobre el movimiento de las pequeñas partículas en el seno del líquido y sus ideas que coloca fuera de la realidad del sistema, deben ser erróneas.

Para hacer el estudio del movimiento browniano y deducir su causa, hemos de comenzar por sentar hechos experimentales que puedan servir de base a la hipótesis; estos hechos definen el carácter de este movimiento, y pueden considerarse como caracteres fundamentales

Caracteres del movimiento browniano.

El movimiento browniano de las partículas dispersas en un medio, se realiza con independencia del de las partículas próximas (Brown, Wiener, Gouy), aunque la distancia entre las partículas, sea menor que su diámetro.

Mientras existe el sistema disperso en que se produce, el movimiento browniano persiste (Wiener, Cantoni [5] Perrin). Robin señala el hecho [6] de que se observa con la misma intensidad, en preparaciones hechas veinte años antes del momento de la observación, pero este carácter se comprueba mejor, observando inclusiones líquidas encerradas en rocas cuarzosas, desde las primeras épocas geológicas y en ellas se reconoce este movimiento, con los mismos caracteres con que hoy lo reconocemos.

Se modifica el movimiento browniano por cualquier causa que transtorne el equilibrio mecánico o térmico del sistema, pero es perfectamente independiente de estas causas. De todas las modificaciones, las producidas por el calor son las más intensas: estudiadas por Sedding [7], deduce que las variaciones son debidas a dos causas, la variación de energía cinética y la del coeficiente de viscosidad del líquido, factores los dos, que varían con la temperatura.

Estos hechos, de comprobación experimental muy sencilla, confirman la idea de que el movimiento browniano se produce independientemente de causas como corrientes de convección, trepidaciones, diferencias de temperatura, etc., estas acciones, se componen con las productoras del movimiento browniano, modificando su velocidad o la dirección de la trayectoria.

En el movimiento browniano, no influye la naturaleza ni la intensidad de la luz con que se observa (Gouy), ni la composición quimica de las partículas (Jevons).

Modificación del movimiento por la presencia de iones.

Cuando al sistema en que se observa el movimiento browniano, se añaden impurezas tales como ácidos o bases, el fenómeno no sufre alteración (Svedberg), a no ser que se produzca la coagulación (Gouy), en cuyo caso, todo movimiento cesa. Las modificaciones que la adición de electrolitos produce en el movimiento browniano de las partículas, han sido estudiadas en las suspensiones de kaolin por Bliss[8] y dedujo que una pequeña cantidad de álcali, acelera el movimiento browniano, que se retarda y llega a anularse, a mayores dosis de este mismo electrolito.

En nuestros estudios sobre la coagulación que más adelante citaremos, hemos podido comprobar que aun en los sistemas reversibles considerados como poco sensibles a las acciones iónicas, la adición de electrolitos[9] modifica la velocidad del movimiento browniano y aun este cesa, para todas las micelas, antes de que se produzca enturbiamiento alguno que preceda a la coagulación aparente y aun antes de que aparezca la aglomeración micelar, conque los fenómenos de coagulacion comienzan a ser visibles al ultramicroscopio.

Variaciones de velocidad.

El aumento de viscosidad en el medio de dispersión, disminuye la velocidad del movimiento browniano, tanto, que llega a ser apenas perceptible en los glicerinosoles (Bodoszewski) mientras que en los gases resulta activisimo (Zsigmondy). Los trabajos de Exner[10], fueron los primeros que llegaron a esta consecuencia, que relaciona la viscosidad del medio, con la aceleración del movimiento, consecuencia muy lógica, por el aumento que con la viscosidad experimenta el frotamiento interno del sistema.

Establece Gouy en sus importantes estudios sobre el movimiento browniano[11], que la velocidad es tanto mayor, cuanto

más pequeñas son las partículas y más tarde Zsigmondy [12] hace notar la diferencia que presentan estos movimientos, según el tamaño relativo de las partículas que se observan; las gruesas partículas de las suspensiones o emulsiones, oscilan sensiblemente alrededor de una posición media, mientras que las muy pequeñas partículas de las disoluciones coloidales, aparecen animadas de movimiento de traslación, en rápidas trayectorias en zig zag «casi a la manera de un ser vivo».

Estas variaciones observadas en la velocidad y en las trayectorias de las partículas animadas de movimiento browniano, son debidas a la diferente masa que poseen las partículas comparadas; Ramsay [13] relaciona estas variaciones, con la densidad de la partícula, pero de ningún modo pueden tomarse como origen de una diferenciación, en cuanto al origen o causa de este movimiento.

Movimiento browniano en los gases.

Las partículas de humo en suspensión en los gases, se encuentran también animadas de movimiento browniano rapidísimo, con relación al de los sistemas líquidos por la menor viscosidad del medio de dispersión, Puccianti y Vigezzi [14] le observaron en el humo de tabaco, bien desecado, y en las nubes blancas de cloruro amónico que se forman, por el contacto de los gases amoníaco y clorhídrico. Zsigmondy [15] observó esta forma de movimiento browniano, y le describe diciendo, que las partículas, distantes entre sí, 10 a 20 μ, poseen a la vez dos especies de movimientos, el uno de oscilación rápida, cuya amplitud es al menos de 10 μ, y el otro de traslación mucho más rápido. Por medio del ultramicroscopio y con aparatos construídos especialmente para este objeto por varios constructores [16], es fácil observarlo en sistemas coloidales gaseosos. Ehrenhaft, fué el primero que hizo mediciones de la actividad del movimiento browniano en los gases [17] encontrando que es más rápido, pero completamente análogo, que el observado en los líquidos. Estos movimientos, de los que nada más hacemos indicación, porque no tienen para nuestro objeto particular interés, le tienen muy grande, por ser mejor conocida la teoría cinética aplicada a los gases, y es con esta orientación, como mejor puede estudiarse el origen del movimiento browniano.

Dejando a un lado muchas hipótesis que para explicar la

causa del movimiento browniano se han dado, que para nosotros no tienen interés el citar, nos referiremos a las ideas actuales.

Ideas de Wiener

Las primeras ideas bien orientadas para explicar cual es la causa del movimiento browniano, fueron expuestas por Wiener en 1863, que planteó la cuestión, en estos términos[18]: «el movimiento browniano, no tiene su origen en las partículas, ni en causa alguna exterior al líquido, debiendo atribuirse, a los movimientos internos característicos del estado fluído» «el reposo aparente de un fluído en equilibrio, es una ilusión debida a la imperfección de nuestros sentidos, pues corresponde a un régimen permanente de constante y violenta agitación». De éstas ideas se deduce, que si en suspension en un fluido, se encuentran partículas suficientemente pequeñas para que su equilibrio se modifique, por las acciones debidas a la agitación molecular, y suficientemente grandes, para que con los medios de amplificación de que se dispone, sean visibles, las observaremos en estado de constante movimiento, debido a la agitación de las moléculas del medio de dispersión, que actualmente demuestra la teoría cinético molecular.

Estas ideas de Wiener, son el arranque de las actuales teorías para explicar la causa del movimiento browniano, y tienen mucho valor, porque en la época en que fueron expuestas, la teoría cinética estaba solamente iniciada.

La masa de un átomo de hidrógeno es 10^{-24} gramos, luego la masa de la molécula de agua, será 18×10^{-24} gramos; la masa de las partículas de un sistema coloidal, de oro por ejemplo, cuyo diámetro sea 10 $\mu\mu$ tienen una masa aproximada a $2 . 10^{-17}$ gramos, es decir, próximamente un millón de veces mayor que la masa de la molécula del medio de dispersión. Para el caso de ser gas el medio de dispersión, la velocidad media de sus moléculas, es de algunos centenares de metros por segundo (nitrógeno, 492 metros; oxígeno, 461 metros; hidrógeno, 1.848 metros), y se comprende que sus repetidos choques sobre las partículas dispersas, produzcan el movimiento que observamos.

W. Ramsay (1876) y después Delsaulx y Carbonnelle (1877), explican cómo el movimiento molecular, puede producir el movimiento browniano, por los movimientos que constituyen el estado calorífico de los fluídos, refiriéndose al origen

termodinámico del movimiento browniano y así lo formula también Gouy (1888), exponiendo el asunto con mayor claridad; Maltezos en 1894 confirma experimentalmente [19] algunas afirmaciones de Gouy y señala la existencia de la fase de rotación, simultánea con la de traslación; después, en 1900 Siedentopf se muestra conforme con estas ideas y Einstein, en 1905, las plantea en forma de una teoría que con distintos razonamientos establece también Smoluchowski en 1906 y que Perrin en 1908, somete a la comprobación experimental, para deducir que la agitación molecular, es la causa del movimiento browniano.

Teoría de Einstein y Smoluchowski.

Einstein supone, que el movimiento browniano, es resultado de choques no coordenados de moléculas, es decir, que las velocidades componentes no son paralelas [20]; el movimiento será desordenado e irregular, las moléculas del medio de dispersión, impulsan a las partículas, en variadísimas direcciones, y así debe resultar simultáneo con el movimiento de traslación, otro de rotación y en conjunto el movimiento browniano será una manifestación objetiva del movimiento molecular.

Independientemente uno de otro, Einstein y Smoluchowski [21] han caracterizado de igual modo la actividad del movimiento browniano, y definen la velocidad media de agitación, que se determina siguiendo de algún modo la trayectoria de una partícula, resultando ser de algunos micrones por segundo, para partículas de una micra, valor éste, muy conforme con las previsiones de la teoría cinética.

La determinación experimental de la velocidad verdadera, no es posible en concepto de Perrin [22] y toma como parámetro característico de la agitación, el segmento rectilíneo que une el punto de partida y el de llegada: este segmento, será el desplazamiento de la partícula, durante el tiempo considerado, y es claro que no representa una trayectoria real, porque la realidad no es una recta uniendo dos puntos que son las posiciones extremas de la partícula en el tiempo considerado, como se representa, sino una línea quebrada muy difícil, en la que las variaciones de dirección, se suceden en espacios de tiempo pequeñísimos.

Siendo irregular el movimiento browniano, su cuadrado medio, X^2, aumentará proporcionalmente al tiempo t y el cociente

Actividad del movimiento browniano.

$\frac{X^2}{t}$, caracterizará la actividad del movimiento browniano. Por otra parte, la ley de difusión de las partículas de una emulsión, debe ser la misma que la de los cuerpos disueltos y el coeficiente de difusión D, satisfará la ecuación:

$$D = \frac{1}{2} \cdot \frac{X^2}{t}$$

ahora bien, considerando un cilindro de emulsión en la que sea una misma fuerza, la que solicite a las partículas que poseerán una velocidad media determinada, aplicando la ley de Stokes cuando el régimen permanente se establezca y admitiendo, según ha demostrado Perrin, que las emulsiones cumplen las leyes de los gases, resulta para valor del coeficiente de difusión[23]:

$$D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6 \pi Z a}$$

pero como estas dos expresiones del coeficiente de difusión son iguales, igualando y multiplicando por 2, tendremos

$$\frac{X^2}{t} = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{3 \pi Z a}$$

Ecuación de Einstein.

que es la ecuación de Einstein, en la cual R, T, N, representan respectivamente, la constante de los gases, la temperatura absoluta y la constante de Avogadro; π, la conocida relación de la circunferencia al diámetro; a, el radio de la partícula, y Z, la viscosidad del líquido.

Disponiendo Perrin de emulsiones, de cuyas partículas ha determinado el radio, somete la fórmula de Einstein a una comprobación experimental, para deducir si el valor de N, dado por la ecuación anterior:

$$N = \frac{t}{X^2} \cdot \frac{RT}{3 \pi a Z}$$

es independiente de la naturaleza de la emulsión y resulta[24], sensiblemente igual al encontrado por otros muy diversos procedimientos.

Realizaron Perrin y sus discípulos estos trabajos, variando todo lo posible las condiciones de la experiencia, sobre todo la

viscosidad y el radio de las partículas, proyectando por medio de la cámara clara sobre un plano horizontal la posición de las partículas, en intervalos de treinta en treinta segundos de tiempo, resultando, según detalla el autor en las obras citadas, que el cociente $\frac{N}{10^{22}}$, es próximamente 70, el mismo que dedujo estudiando la repartición de gránulos en las emulsiones según variaciones de alturas (V. pág. 105). Esta concordancia, no solo demuestra la exactitud de la teoría de Einstein, sino que también pone de manifiesto la realidad de la existencia de las moléculas.

Determinación de la constante de Avogadro.

Perrín admite como consecuencia de sus importantes investigaciones el valor $68,5 \cdot 10^{22}$ para el número N (constante de Avogadro), de donde resulta para el electrón, la carga $4,2 \times 10^{-10}$.

Hasta aquí, hemos considerado solamente el movimiento browniano de traslación, pero las partículas animadas de esta especie de movimiento, cambian de lugar, y simultáneamente giran, coexistiendo los movimientos de traslación y de rotación. Einstein deduce que representando A^2 el cuadrado medio de la componente al rededor de su eje del ángulo de rotación durante el tiempo t, la fórmula:

Rotación de las partículas.

$$\frac{A^2}{t} = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{4 \pi Z a}$$

de la que resulta una rotación media de 8° por centésima de segundo, para partículas de 1 μ de diámetro, rotación rapidísima, que hasta cualitativamente es difícilísimo estudiar experimentalmente. Perrín disminuye esta dificultad, trabajando con partículas relativamente gruesas, a las que llega, dejando penetrar lentamente el agua en una disolución alcohólica de la resina que emplea y difundiéndose lentamente el agua en la solución alcohólica, las partículas que se dispersan, alcanzan 12 μ de diámetro y frecuentemente presentan inclusiones visibles que no modifican sensiblemente la densidad del gránulo, y que son puntos de referencia, gracias a los cuales puede observarse perfectamente el movimiento de rotación.

La enorme masa de estos gránulos, es un inconveniente para estudiar su movimiento browniano, por las alteraciones que pro-

que el tamaño de la partícula dispersa aumenta, la suma algébrica de los efectos debidos a los choques con las moléculas del medio de dispersión, tiende hacia cero, ya que estas partículas podemos suponerlas flotando en su medio de dispersión.

Trabajos de Perrin

Sometida la teoría de Einstein a la rigurosa comprobación experimental realizada por Perrin, debemos ver el movimiento browniano, como una imagen fiel del movimiento molecular que admite la teoría cinética, resultando de estos trabajos, que no existe solución de continuidad, entre las pequeñas moléculas de nitrógeno, por ejemplo, dispersas en el agua, y las enormes partículas visibles al microscopio, dispersas en las emulsiones, siendo una consecuencia lógica, establecer la continuidad, pasando por las partículas dispersas en los sistemas coloidales. El trabajo de Perrin, es análogo en importancia y finalidad al de Van t' Hoff, aplicando las leyes de los gases a los solutoides; una emulsión, dice Perrin, es una atmósfera en miniatura.

Para el caso de sistemas coloidales, no se han realizado todavía trabajos experimentales, de los que pueda deducirse su analogía de constitución con la materia gaseosa, ni se ha hecho con este caso particular de sistema disperso, una comprobación de las teorías de Einstein; Perrin dice en sus obras[26], que intentó hacer á este fin algunos ensayos con las disoluciones coloidales más corrientes (sulfuro de arsénico, hidróxido férrico, etc.), pero sin resultado. Es indudable, que los sistemas coloidales no pueden ser una excepción en el cuadro general y esas demostraciones experimentales, las realizará quien disponga de medios y métodos de trabajo adecuado. Es cierto, que está admitida la analogía de constitución entre la materia gaseosa y la materia en estado coloidal, formada por micelas dispersas en un dispersoide; la continuidad que de hecho existe entre los solutoides y los dispersoides (V. pág. 88), es un argumento en favor de esa analogía y los trabajos do Svedberg, los de Einstein, los de Perrin, lo confirman, pero todavía están por realizarse una serie de investigaciones sobre coloides, para fundamentar más éstas ideas.

Al estudiar los sistemas dispersos, hemos demostrado, que las diferencias de orden físico-químico que entre unos y otros sistemas se señalan, son consecuencia únicamente de su grado

Analogías de constitución entre los sistemas dispersos y los gases.

de dispersión, es decir, una diferencia del mas o del menos, que no es esencial: por su constitución, todos los sistemas dispersos presentan analogías entre sí, y los trabajos de Van t' Hoff y Perrin, establecen analogías entre estos sistemas y los gases. La importancia teórica de estos trabajos es enorme y como consecuencia de ellos, que a nosotros nos interesa particularmente señalar, aparece en primer término, la realidad molecular, la existencia de la molécula, de la que ya no debe hablarse en hipótesis, sino expresarla como una idea que se impone a nuestro espíritu; la agitación molecular, es puesta de manifiesto por el movimiento browniano, resultando éste, un fenómeno intermediario por el cual nos explicamos la realidad de esa agitación térmica, que parcialmente representa, la cantidad enorme de energía que la materia tiene acumulada.

Realidad molecular.

De las moléculas gaseosas, se conoce una teoría cinética, que se aplica a las partículas dispersas en un medio de dispersión, y también a los electrones libres, a los cuales deben los metales su conductibilidad eléctrica: el paralelismo es perfecto, llegándose a coincidencias numéricas, que no pueden considerarse como casuales. La existencia del átomo como la de la molécula, no es una hipótesis convencional, es una realidad. Demócrito al idear la existencia del átomo, le supuso simple e indivisible, hoy se le supone de constitución muy complicada y divisible, produciéndose su constante descomposición espontánea, por los fenómenos de radiactividad. De manera análoga a como el movimiento browniano es fenómeno intermediario, por el cual vemos en cierto modo la agitación térmica de las moléculas, la estintilación de una partícula α proyectada sobre una pantalla de sulfuro de cinc, nos hace ver el átomo.

Ya no debe decirse hoy que las reacciones químicas se verifican como si los átomos y las moléculas existieran, sino que se realizan porque los átomos y las moléculas existen, con las masas y con las actividades químicas, que les caracterizan; no existen solamente en la imaginación de los químicos, tienen realidad en la creación, se les encuentra en el mundo exterior, no son como esas fuerzas misteriosas que solo existen en la imaginación de algunos filósofos y que fuera de ella, no se las encuentra por parte alguna.

La materia viva, cuya constitucion químico-física venimos estudiando, es, aun considerada en la menor cantidad precisa para que los fenómenos de vida se manifiesten de manera permanente (la célula), un sistema disperso muy complejo, porque contiene conjuntamente los diferentes grados de dispersion establecidos en la sistemática de Ostwald: lo que de solutoides o de dispersiones tiene, los trabajos de Arrehenius, de Van t' Hoff y de Perrin, citando solo los más notables, dan idea de su constitucion y de sus propiedades fundamentales. Pero indudablemente, aunque es de interés el estudio de todos los sistemas componentes del complejo sistema, denominado materia viva, entre todos destaca en importancia el coloidal, porque es característico y lo presentan las materias, que como los albuminoides y los lipoides, se conceptúan como fundamentales en los fenómenos vitales.

Importancia del estudio de los coloides.

El conocimiento de los sistemas coloidales, particularmente en el caso de que la materia dispersa, sea de constitución química análoga a la de las que forman lo más fundamental de la materia viva, por ejemplo materias albuminoideas, presenta como uno de los objetos de estudio el movimiento browniano en tales sistemas. Tratándose de materia viva, tal cual es, este fenómeno aparece profundamente perturbado, porque tal materia se encuentra encerrada, en tan pequeños recipientes (formados por las capas externas de la célula) con relación a su masa, que las partículas dispersas, no poseen la libertad necesaria para desplazarse como corresponde a la agitación molecular de su medio de dispersión, pero la materia viva, debe considerarse en estado constantemente dinámico, derivado del movimiento browniano.

Para iniciar el estudio del movimiento browniano en el caso particular a que nos referimos, operamos con sistemas mucho más elementales, formados por el agua destilada como medio de dispersión, y una materia albuminoidea tipo, dispersa en ese líquido: los términos del problema, alcanzan así una relativa sencillez y de su estudio, pueden deducirse consecuencias, de evidente importancia para el estudio físico-químico de la materia viva.

El movimiento browniano en la materia viva.

Operando según la técnica que ya hemos expuesto, para ob-

tener preparaciones de disoluciones coloidales de materias albuminoideas, que puedan observarse bien con ayuda del ultramicroscopio, hemos estudiado el movimiento browniano micelar de estas partículas, mucho más difícil que el de los gruesos gránulos, porque la agitación que adquieren por este movimiento, es mucho más activa; porque sus propiedades ópticas con relación a las del agua, las hace más difícilmente visibles; porque las manchas de difracción casi circulares que en la mayoría de los casos producen, no permite observar su movimiento de rotación; aparte de que su pequeño tamaño, su alto y variable grado de hidrofilia y su difícil coagulación con relación a los coloides metálicos, y en general a los inorgánicos, dificulta extraordinariamente el determinar volúmenes, radios, masas, etc., etc., datos estos, necesarios para deducir ulteriores consecuencias.

El movimiento browniano en los dispersoides albuminoideos: cómo debe observarse.

Las disoluciones coloidales de materias albuminoideas que deben prepararse para hacer estudios sobre el movimiento browniano de sus micelas, deben ser suficientemente diluídas y obtenidas con agua bidestilada, conservada como antes indicamos (V. pág. 175) para que prácticamente, pueda considerarse como ópticamente vacía: la disolución que obtengamos, debe filtrarse por los tubos filtros que utilizamos (fig. 24) apretando más o menos la pasta de celulosa, según el caso de que se trate; así desaparecen del campo del ultramicroscopio, las agrupaciones micelares formadas por tres o cuatro micelas reunidas, que se mueven juntas con lento movimiento browniano y que perturba sensiblemente el movimiento de las pequeñísimas partículas albuminoideas, pues a las más próximas, las refrena en su movimiento, para salir después como proyectadas con una velocidad, en el primer momento, algo mayor que la que normalmente se observa; la concentración conveniente para estas observaciones, es aproximadamente la que representa la fig. 25. Estos detalles sobre la obtención del sistema coloidal, cuyo movimiento browniano queremos estudiar, los conceptuamos de mucha importancia.

El estudio de la fase de traslación del movimiento browniano micelar, es mucho más fácil de hacer, que el de la fase de rotación y por ello por él comenzamos. La disposición corriente del ultramicroscopio con una buena iluminación por arco de 3-4

amperios o lámpara de 600 bujías, es la que para nuestras investigaciones hemos empleado.

La fase de traslación: sus distintas formas

El movimiento browniano de traslación de la micela albuminoidea, no se interrumpe mientras la micela goza en su medio de dispersión, de la libertad necesaria, pues cuando esto no ocurre, el movimiento o se transtorna, o cesa. Esta fase de movimiento browniano, es distinta, considerada en períodos de tiempo consecutivos, sucediéndose por intervalos irregulares, a un movimiento regular de traslación, otro muy irregular, de mayor dura-

Figura 26

ción: corresponden al primero, trayectorias rectas que forman líneas quebradas sencillas; durante el segundo, la micela se encuentra en estado de gran agitación y recorre trayectorias menores que en la fase anterior en igual tiempo, trazando pequeñas trayectorias rectas, que forman una línea quebrada irregular en la que se entrecruzan las trayectorias parciales. Para diferenciarlos, denominamos estas distintas formas de movimiento de traslación, respectivamente, *tranquila* y *trepidante*.

Hemos realizado nuestras observaciones experimentales, por

Métodos experimentales.

dos métodos distintos; con ayuda de la cámara clara, de modo análogo a como Perrin estudió el movimiento browniano de traslación de los gruesos gránulos de las emulsiones, y con ayuda del cinematógrafo. Otros varios métodos hemos ensayado, por ejemplo, el de proyectar sobre el vidrio deslustrado del aparato microfotográfico unido al ultramicroscopio, la mancha de difracción producida por la micela y seguir dibujando la trayectoria, o el de preparar un campo ultramicroscópico muy negro, y en él muy pocas, cinco o seis micelas; proyectando la imagen sobre una placa fotográfica muy sensible y dando una larga exposición, se reconocerá sobre la placa después de revelada, la trayectoria micelar, proyectada en plano horizontal. Entre todos los métodos, este nos parece el mejor, e indudablemente ofrece más garantías de exactitud que el cinematógrafo; muchas tentativas hemos realizado para usarlo, pero no hemos podido llegar mas que a trayectorias como las representadas en la fig. 26, que no nos parecen suficientemente satisfactorias. Quizá con el tiempo y mejores medios de trabajo, podamos perfeccionar este método. Las micelas cuyas trayectorias aparecen en la figura, son de trisulfuro de arsénico, y el aumento real sobre la placa, es de 450 diámetros. Tiempo de exposición, un minuto.

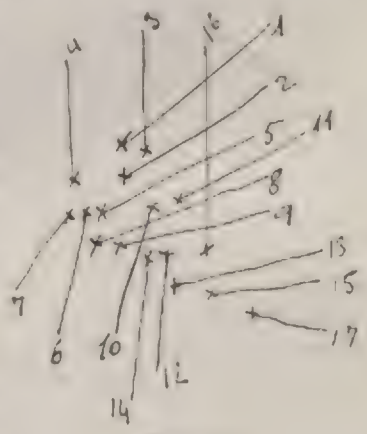


Figura 27

Para estudiar este movimiento con la cámara clara, hacemos la preparación en las cámaras de cuarzo y montamos el ultramicroscopio con el condensador cardioide, el objetivo apocromático especial 3 mm. (Zeiss) y el ocular núm. 5, graduando el tubo del microscopio de tal modo, que con el micrómetro objetivo comprobamos, que operamos exactamente a un aumento de 1.000 diámetros; de este modo, cada milímetro de la línea representativa de la trayectoria que obtendremos del movimiento browniano, representa una micra; por último, para interpretar más fácilmente la gráfica,

resulta que la trayectoria media, proyectada en plano horizontal, construída con 29 observaciones, es para la gráfica núm. I, 201 μ y para la número II, 180, lo que representa unas trayectorias medias en 10 segundos de tiempo, de 6,9 μ y 6,4 μ respectivamente, números suficientemente aproximados, para demostrar que operando según lo hacemos, las trayectorias medias nos dan idea de la magnitud de la velocidad real.

Resultados.

Rectificando ahora la gráfica número III, encontramos una trayectoria total en las 28 observaciones que contiene, de 83 μ, de donde deducimos que la trayectoria media encontrada para dos segundos de intervalo de tiempo, es 2,9 μ. Deduciendo de

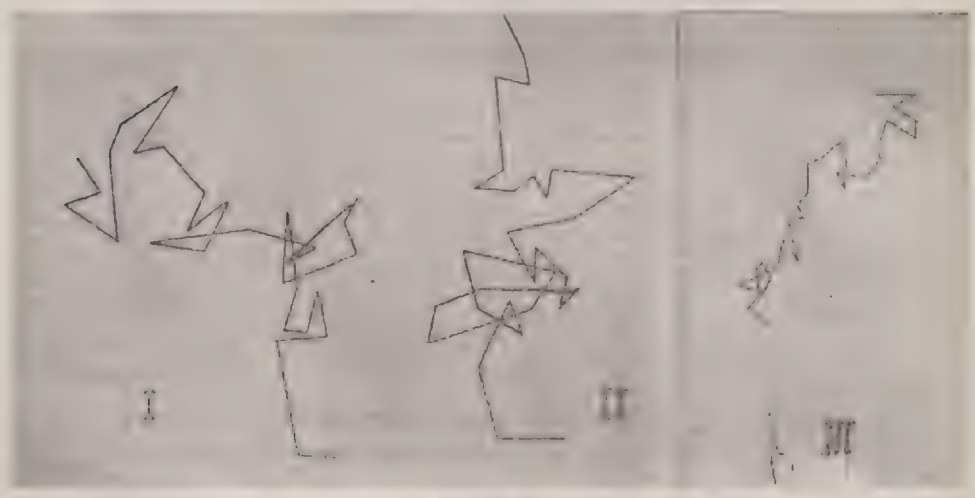


Figura 38

este número, la trayectoria para intervalos de 10 segundos, (2,9 × 5) nos da 14,5 μ y comparado este valor, con los encontrados en las gráficas anteriores, se deduce que muy aproximadamente, las velocidades así calculadas, para tiempos que se encuentren en la relación de 1 es a 5, resultan en la primera serie $\sqrt{5}$ veces mayores que las de la segunda ($6{,}6 \times \sqrt{5} = 14{,}85$). Este resultado experimental confirma los trabajos de Smolouchouski[21] sobre la velocidad del movimiento browniano, determinada en distintos espacios de tiempo.

De nuestros trabajos sobre diferentes dispersoides albumi-

nodeos. Damos ahora cuenta solamente, de los que se refieren a soluciones de ovoalbúmina y de ovoglobulina. Obtuvimos estas disoluciones coloidales, separando por precipitación fraccionada, por medio de disolución saturada de sulfato amónico, las albúminas de las globulinas, que se encuentran juntas en la clara de huevo: a un volumen de disolución acuosa de clara de huevo, añadimos otro volumen igual de la disolución saturada de sulfato amónico, obteniendo así un líquido en el que ésta sal, se encuentra en cantidad equivalente a semisaturación; en éste líquido, aparece un precipitado blanco de ovoglobulina, que así se separa de

Separación de albúminas y globulinas.

Figura 29

la ovoalbúmina que continúa dispersa. Se filtra para separarlas, y recogido el precipitado de ovoglobulinas le coloco en el tubo filtro (fig. 24), separando mecánicamente la mayor parte del líquido que contiene; lavé con pequeñas cantidades de agua bidestilada, con ayuda de la trompa, hasta que una gota no da la reacción característica del ión SO_4''; se pierde en este lavado mucha globulina, pero con una pequeña cantidad que reste, basta para la experiencia. El líquido primeramente filtrado, contiene la ovoalbúmina, y para separarla de los iones que la acompañan, añado sulfato amónico cristalizado, hasta saturación (el líquido quedó semisaturado de ésta sal) y la ovoalbúmina se precipita: separo

el líquido, coloco la ovoalbúmina en tubo filtro y lavo muy cuidadosamente para eliminar los iones. Para que sean completas estas separaciones de iones y micelas, hay que operar muy cuidadosamente en las filtraciones, con pequeñas masas de agua sin añadir la siguiente, antes de agotar la anterior, y dando a la masa filtrante de celulosa una altura conveniente.

Por qué no utilizamos la dialisis.

Aparece como solución inmediata para realizar éstas separaciones de iones y micelas la dialisis, más fácil y de resultados más seguros, que esas difíciles filtraciones que describimos; ya intentamos practicar así la separación que interesa hacer, pero

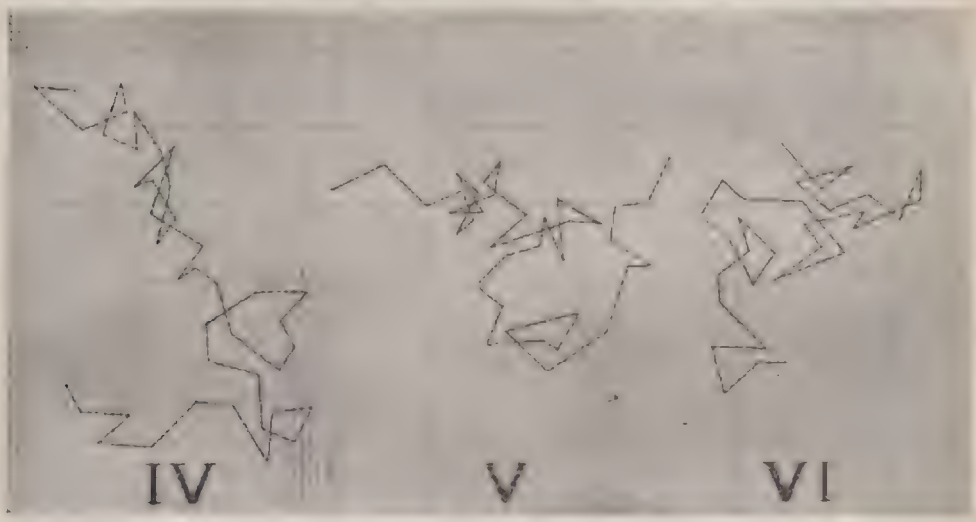


Figura 30

en ello apareció un grave inconveniente: la dialisis se realiza durante un espacio de tiempo suficientemente largo, para dar lugar a que aparezcan en la disolución albuminoidea, unas bacterias de putrefacción no visibles al microscopio ordinario, pero sí al ultramicroscopio, que poseen movimientos rapidísimos, al mismo tiempo que forman manchas muy brillantes, que molestan mucho para la observación del movimiento de las micelas. Por esta causa, preferimos practicar las filtraciones indicadas muy rápidas, que después de hechas algunas, se practican con relativa facilidad. No hay que olvidar, y esta es otra razón para optar por nuestro método de filtración, que para estos estudios, algu-

nas gotas de disolución coloidal son suficientes, mientras que por dialisis no es práctico operar con muy pequeñas masas.

Obtenidas las disoluciones coloidales de ovoalbúmina y de ovoglobulina por la técnica expuesta, se hacen las preparaciones en las cámaras de cuarzo y se observan como hemos indicado, construyendo las gráficas correspondientes.

Movimiento browniano en albúminas y globulinas.

La fig. 29 representa tres gráficas de trayectorias medias, correspondientes a ovoglobulina y la fig. 30 otras tres, referentes a micelas de ovoalbúmina, mediando de observación a observación diez segundos.

Deduciendo ahora los recorridos medios por minuto, sumando seis valores consecutivos de los recorridos medios en diez segundos, para obtener resultados comparables, encontramos valores convencionales representados por los números siguientes:

	GRÁFICA I	GRÁFICA II	GRÁFICA III
Para la ovoglobulina....	32 . 31 . 32 . 33 . 34	29 . 33 . 32 . 32	33 . 29 . 29 . 32
	GRÁFICA IV	GRÁFICA V	GRÁFICA VI
Para la ovoalbúmina....	34 . 32 . 33 . 31 . 32	32 . 27 . 43 . 40 . 32	35 . 36 . 43 . 28 . 36

Trayectorias medias.

Estos números expresan, que el recorrido medio por minuto deducido del modo convencional que hemos indicado, es, para las micelas de ovoglobulina, de 31,5 micras, y para las de albúmina de 34,5 micras, lo que representa para las micelas de ovoglobulina, una trayectoria media por segundo, de 0,52 μ y para las de ovoalbúmina de 0,56 μ. Como hemos operado con el mismo medio de dispersión (igual viscosidad) y a igual temperatura, interpretamos estos resultados por aplicacion de las fórmulas de Einstein, como una comprobacion experimental de que las micelas de ovoglobulina, son de mayor diámetro que las micelas de ovoalbúmina: para los dos casos, de los factores que intervienen en las fórmulas de Einstein, son iguales t, R, T, N, π, Z, (V. pág. 190); luego si la actividad del movimiento browniano de traslación X^2, es distinta en los dos casos, el valor de a, radio de la micela, con el que está en razón inversa, será menor, en las micelas cuya trayectoria media de traslación sea mayor. Otras muchas razones de orden bioquímico, que más adelante citaremos, confirman esta deduccion obtenida por consideraciones mecánicas.

Los valores de trayectorias medias que hemos deducido operando con el dispersoide de plata (Bredig) y su variación según el tiempo que media de una observación a otra, nos demuestra que los recorridos deducidos con medias aritmeticas, son como ya hemos dicho convencionales, pero creemos que comparables.

Influencia de la temperatura.

Hemos tratado de estudiar la influencia de la temperatura sobre la actividad del movimiento browniano micelar de traslación, en dispersoides de materias albuminoideas, pero nuestras investigaciones no han podido ser cuantitativas, porque no disponemos de medios de trabajo, para sostener en la platina del ultramicroscopio una temperatura constante, ni siquiera de los precisos para conocer cual sea la temperatura de la preparación; por estas razonables causas, no hemos podido hacer más que experiencias cualitativas, que confirman en los dispersoides, las fórmulas de Einstein.

La misma dispersión de ovoalbúmina con que obtuvimos las gráficas anteriores, la calentamos hasta 40°; la temperatura del Laboratorio, era 12°, mientras hicimos las observaciones necesarias para construir la gráfica, la temperatura, seguramente descendería, no sabemos cuanto, pero la gráfica obtenida, representada en la fig. 31 comparada numéricamente con las anteriores números IV, V y VI, da un mayor recorrido medio por minuto. En la gráfica núm. VII, los recorridos medios por minuto obtenidos sumando seis recorridos medios consecutivos, se representan en micras por los números 42, 37, 46, 42, 41, de los que se deduce, una velocidad media por segundo representada por 0,66 μ. Comparando este número con el anteriormente obtenido para la misma dispersión de albúmina (0,56 μ) se deduce que la agitación media del movimiento browniano micelar, aumenta con la temperatura, consecuencia de acuerdo con las fórmulas de Einstein, y perfectamente lógica, siempre

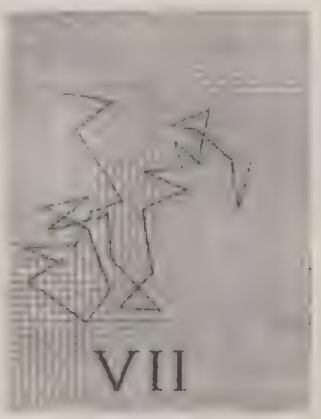


Figura 31

que la causa del movimiento browniano, sea el choque no coordenado de las micelas dispersas, con las moléculas del medio de dispersión, cuya energía cinética se incrementa con la temperatura.

Aplicación del cinematógrafo.

Nuestras investigaciones sobre la determinacion de velocidades medias de traslación de las micelas animadas de movimiento browniano, con ayuda del cinematógrafo, han sido sobre disoluciones coloidales metálicas, cuyas micelas son en el campo del ultramicroscopio, mucho más brillantes que las albuminoideas.

Figura 32

La técnica que utilizamos, consiste, en acoplar la cámara cinematográfica, al ultramicroscopio, (fig. 32) iluminar lo mejor que pudimos, e impresionar cintas, haciendo cada diez segundos, diez, quince o veinte fotografías. Una vez revelada la película, la proyectamos sobre una vitela, y la proyección de cada posición de la micela, en cada fotografía, la marcamos clavando alfileres en forma de banderitas numeradas, dibujamos la gráfica sobre la pantalla, y obtuvimos después de esta gráfica una fotografía. Un trozo de la cinta se impresiona enfocando un micrómetro objetivo, para conocer así exactamente, los aumentos de la combinación óptica del microscopio, al proyectar la imagen sobre la película, y después, el aumento obtenido al proyectar la cinta micrométrica sobre la pantalla; al fotografiar la gráfica, hago la reducción precisa, para obtener en ésta con un aumento exacto de 1.000 diámetros, y así es muy segura y exacta la interpretación de las experiencias.

Cómo he obtenido las gráficas.

No he pasado, utilizando este medio de investigación, de confirmar las consecuencias obtenidas por medio de la cámara clara, pero he de significar que este procedimiento es más exac-

to, aunque mucho más difícil que el anterior. Si el cinematógrafo se aplicara a estudiar el movimiento browniano en gruesas y en pequeñas partículas, evitando el error sistemático (Perrin[22]) en que incurrió Henri[28], creo que se obtendrían resultados muy apreciables.

Concentración más conveniente.

Aplicado a las disoluciones coloidales, precisa obtenerlas muy diluídas, dando idea de la concentración conveniente, el trozo de película que representa la fig. 33 referente a un dispersoide de osmio, que obtuvimos reduciendo por medio del ácido oleico, la disolución de peróxido de osmio ($Os\ O_4$). Con más facilidad se impresionan las películas, cuando el dispersoide está muy concentrado, porque la luminosidad producida es mucho mayor; pero estas películas, solo pueden aplicarse a estudios cualitativos. La fig. 34 reproduce algunas fotografías de unas de nuestras películas referente a hidrosol de plata Bredig. El impresionar películas con estas preparaciones, no es cosa fácil y para seguir las micelas en su movimiento cuando se proyectan sobre una pantalla, se requiere mucha práctica y mucha paciencia. Estas dificultades han sido para nosotros mucho mayores de lo que son en sí, porque en nuestro Laboratorio no hay personal que pueda prestar la ayuda precisa, ni poseemos aparato para impresionar películas ni para proyectarlas, debiendo a la bondad de poseedores de estos aparatos, el que hayamos podido iniciar estas investigaciones.

Figura 33

Figura 34

Para la práctica de estos métodos cinematográficos, el problema es en primer término de iluminación: quien disponga de un buen heliostato, y de los aparatos precisos para impresionar y proyectar películas, además de los colaboradores que para este

género de investigaciones son precisos, podría hacer determinaciones muy exactas sobre la agitación media de las partículas de grado coloidal animadas de movimiento browniano, proyectadas en plano horizontal y obteniendo las cintas con tiempos de exposición cada vez menores, hasta el límite práctico posible, estudiando cuantitativamente con ayuda de medios adecuados, la influencia de la temperatura, de las acciones iónicas, etc., etc., se deducirían consecuencias de gran importancia:

Determinación del diámetro de micelas aplicando la fórmula de Einstein.

De la fórmula de Einstein, citada anteriormente,

$$\frac{X^2}{t} = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{3 \pi a Z}$$

se deduce, para X, el valor,

$$X = \sqrt{\frac{t}{a}} \sqrt{\frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{3 \pi Z}}$$

que expresa el recorrido en centímetros con movimiento browniano, para una partícula de radio a, durante el tiempo t, a la temperatura absoluta T, y en un medio de dispersión cuya viscosidad sea Z.

Vista esta fórmula, se deduce, que si determinamos con una cierta aproximación el recorrido de una partícula animada de movimiento browniano, podremos deducir con análoga aproximación, el radio a de la partícula conociendo los valores de los restantes factores de la fórmula de Einstein. Con objeto de determinar el valor de X en centímetros, para una trayectoria proyectada en plano horizontal, utilizamos la cámara clara, montando el ultramicroscopio con la combinación óptica que produce exactamente un aumento de 1.000 diámetros y seguimos marcando en el papel

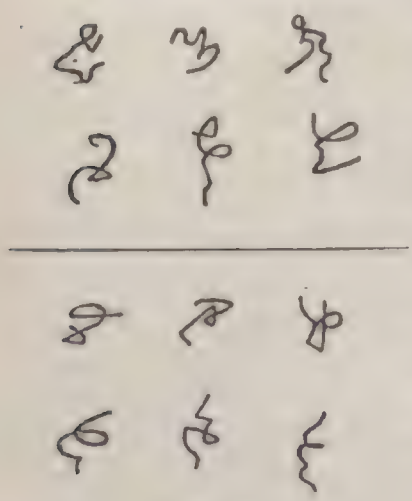


Figura 35

donde se proyecta la imagen ultramicroscópica, la marcha de una partícula, durante 10 segundos; repetimos varias veces y con distintas micelas del mismo dispersoide, esta misma operación, después aplicamos lo más exactamente posible un hilo sin torcer, engomado, sobre la trayectoria dibujada; desprendiendo luego el hilo del papel, una regla dividida en milímetros, nos da su longitud, obteniendo así en micras, el recorrido de la micela durante el tiempo 10 segundos. La fig. 35 representa varias de estas trayectorias, referentes a micelas de ovoalbúmina y de ovoglobulina.

No se nos oculta, que este procedimiento tiene error de método, pues la trayectoria real proyectada, es una línea demasiado complicada para poder seguirla sobre el papel con alguna exactitud; por otra parte, la partícula no se mueve en plano horizontal y al proyectar su trayectoria de este modo, se comete el error que representa su movimiento real en planos distintos. Tratamos de disminuir algunos de estos errores, haciendo varios dibujos de trayectorias (veinte para cada caso) y tomando como valor de X, la media aritmética de estas determinaciones.

Aplicamos este método a las preparaciones de ovoalbúmina y de ovoglobulina obtenidas del modo ya indicado y encontramos como valores de X, 0,0027 cm. y 0,0023 cm. respectivamente en cada caso. Con estos datos experimentales, aplicamos la fórmula de Einstein, sabiendo que $t = 10$ segundos; $N = 68{,}5 \times 10^{22}$; $\pi = 3{,}1416$; $R = 8{,}31 \times 10^7$ en ergios (dynas centímetros); $T = 273 + 17^\circ = 290^\circ$; Z, viscosidad del agua a la temperatura 17° c. a que operamos, $1{,}35 \times 10^{-2}$ y tendremos para el caso de la ovoalbúmina:

$$0{,}0027 = \sqrt{\frac{10}{a}} \cdot \sqrt{\frac{8{,}31 \times 10^7 \times 290}{68{,}5 \times 10^{22}}} \cdot \frac{1}{3 \times 3{,}1416 \times 1{,}35 \times 10^{-2}}$$

o sea:

$$0{,}0000729 = \frac{10 \times 8{,}31 \times 10^7 \times 290 \times 1 \times 100}{a \times 68{,}5 \times 10^{22} \times 3 \times 3{,}1416 \times 1{,}35 \times 1}$$

resolviendo esta ecuación con relación a r y aplicando logaritmos para el cálculo numérico, tendremos:

$$\log. X = (1 + 0{,}919601 + 7 + 2{,}4623980 + 2) -$$

$$-(6{,}862728 + 1{,}835601 + 22 + 0{,}477122 + 0{,}497008 + 0{,}130334)$$

de donde:

$$\log. r = \bar{7},579056 \quad \text{luego}$$
$$r = 0{,}0000003793 \quad \text{centímetros, o sea:}$$
$$r = 0{,}003793\ \mu \quad \text{o} \quad d = 0{,}00758$$

haciendo un cálculo análogo al detallado, en el caso de la ovoglubina, para cuyas micelas obtuvimos un recorrido en centímetros de 0,0023, resulta que el diámetro de estas partículas, es 0,0164 μ.

Los valores encontrados son relativos.

Estas determinaciones, aparte los errores de método a que ya nos hemos referido, tienen otra causa de error, debida a que no he dispuesto materialmente de medio adecuado para medir la temperatura de la preparación, en el momento que se observa, y este dato, tiene verdadera importancia, por sí mismo, y por las variaciones que en la viscosidad del medio produce. La temperatura del Laboratorio era 14° y convencionalmente, he supuesto para la preparación 17°, sin ocultárseme, que por la gran cantidad de luz con que ilumino, la temperatura experimentara mayores variaciones; pero creo razonable suponer, que la relación entre los diámetros de las micelas de ovoalbúmina y de ovoglobulina, será la de los números que hemos encontrado. Aparte estas razones, las consideraciones mecánicas hechas antes, demuestran que el recorrido real no es el que resulta de la proyección sobre un plano, pero admitimos que este, guarda relación con el real, de modo que los diámetros de micelas deducidos, no son los reales, pero sí estarán en la relación de los diámetros reales.

Interesa mucho en bioquímica, conocer el diámetro de las micelas, pues esto nos daría idea de su superficie con relación a su masa, y así podrían explicarse muchos caracteres diferenciales que presentan, los diferentes coloides que constituyen la materia viva.

Movimiento browniano de rotación.

El movimiento browniano de rotación de las partículas dispersas en un sistema coloidal, es muy difícil de observar directamente con el ultramicroscopio, dando a este aparato la disposición que de ordinario se usa.

Por lo que al exponer los trabajos de Perrin, sobre la verificación de las fórmulas de Einstein, en esta fase del movimiento browniano en las emulsiones hemos dicho, se comprende que la

rotación en las pequeñísimas partículas dispersas en la disolución coloidal, será rapidísima y lo es tanto, que hasta su observación cualitativa resulta muy difícil. Sin embargo, hemos podido observarlo en la ampliación de la imagen que da el cinematógrafo, proyectando nuestras películas de modo, que las imágenes de las manchas de difracción que producen las micelas, resulten considerablemente amplificadas.

La observación personal del movimiento browniano de rotación puede hacerse, sustituyendo el ocular en el ultramicroscopio ordinario, por un microscopio completo, con lo cual se consigue un aumento igual, al producto del aumento propio del objetivo del ultramicroscopio, por el aumento que produzca la combinación óptica del microscopio ocular.

Combinación de microscopios para obtener grandes aumentos.

Para estos estudios, he operado con las cámaras de cuarzo y el objetivo especial apocromático 3 mm., cuyo aumento propio es 83, utilizando siempre el condensador cardioide, e iluminando con lámpara de 2.000 bujías o con arco eléctrico de 20-25 amperios: montando el microscopio ocular con el objetivo *A*, y con el ocular 1 ó con el 4, obtengo respectivamente:

$$47 \times 83 = 3901 \text{ diámetros}$$

$$97 \times 83 = 8051 \text{ diámetros}$$

y todavía he llegado a poder hacer observaciones, montando el microscopio ocular con el objetivo *D D* y el ocular núm. 5, sistema cuyo aumento es de 580 diámetros, obteniendo por lo tanto un aumento total de:

$$580 \times 83 = 48140 \text{ diámetros.}$$

Con esta última combinación, la observación es muy difícil, pero posible: con las primeras es relativamente sencillo.

Las imágenes de difracción que se obtienen con esta combinación de microscopios, que denomino *de grandes aumentos*, presentan sus bordes difuminados, apareciendo tanto más indeterminados, cuanto mayor sea el aumento conseguido; aparece un fuerte cromatismo que no tiene corrección alguna, pues el ocular que empleo, (un microscopio) no es apropiado por construcción, al objetivo del ultramicroscopio, pero lo que no tiene

duda, es que los movimientos de estas enormes imágenes, corresponderán exactamente con los movimientos de las pequeñísimas partículas que las producen, de donde se deduce que podrán estudiarse, aun en su rapidísima fase de rotación, cosa que con el ultramicroscopio ordinario, no puede hacerse. Insisto en que con este método de trabajo que aplico, no se trata de observar formas, sino movimientos.

La fig. 36 representa el acoplamiento de los dos microscopios en forma análoga a la que describe Bourrieres[20] en Diciembre de 1913 y a quien por haberlo publicado antes, corresponde la prioridad de este método.

Figura 36

Técnica.

Operando así, es como mejor puede verse que la agitación de las partículas animadas de movimiento browniano, no es debida a causa alguna exterior al sistema, pues montado el aparato para obtener una amplificación de 8000 diámetros, se observa cómo este movimiento se compone con la pequeña trepidación que produce una persona al pisar en la habitación en que está el aparato y a 48000 diámetros, se hacen sensibles perturbaciones producidas por los movimientos del corazón del observador, si se apoya en la mesa donde los microscopios se hallan instalados.

Observación de la rotación de las micelas.

Entre los varios sistemas coloidales que hemos observado de este modo, las dispersiones acuosas de nucleína de levadura, se prestan particularmente a la observación del movimiento browniano de rotación, porque las manchas de difracción, representativas de las micelas, aparecen ligeramente alargadas y por ello se realiza mejor que en las que tienen forma circular (gelatina) u ovoideas (albúmina) porque por su forma, presenta puntos de re-

ferencia. La micela no gira de un modo continuo, sino en períodos que se repiten a intervalos irregulares: en esta fase de rotación, la micela gira rápidamente, describiendo ángulos de rotación variables, que tienen su centro por vertice, en un espacio de tiempo tan corto, que prácticamente no puede contarse y se observa, que inmediatamente después de un giro, verifica otro en sentido contrario, aparentemente de igual amplitud, con el aspecto de una reacción semejante a la de un resorte: a veces se observan dos o más giros consecutivos en un mismo sentido, realizándose éstos, en sentido contrario al de la marcha de las saetas de un reloj.

El movimiento de rotación se compone con el de traslación.

El movimiento de rotación no es constante; se sucede a intervalos irregulares y compuesto con el movimiento de traslación, produce la fase de este que denominamos trepidante: cuando la micela no gira, recorre en su fase de traslación mayores espacios, originándose así en nuestro concepto, la fase que denominamos tranquila del movimiento browniano de traslación.

En conclusión, deducimos de nuestras observaciones, que el movimiento browniano micelar, tiene su fase de traslación, recorriendo la micela, a intervalos irregulares, trayectorias rectas a los que suceden otros de mayor duración, en los cuales, la partícula gira, y componiéndose este movimiento de rotación con el de traslación, recorre trayectorias muy irregulares [30].

Cuando en la preparación ultramicroscópica existen aglomeraciones micelares, formadas por dos o más micelas, siempre que el número de estas no sea demasiado grande (mayor de cuatro o cinco para la mayoría de los casos), poseen un movimiento análogo en su aspecto al browniano, pero mucho más lento, cuya velocidad está en relación con la masa del aglomerado micelar: en las aglomeraciones de cierto número de partículas, se observa inmovilidad aparente: estas aglomeraciones aparecen abundantemente, en las disoluciones albuminoideas turbias o incompletamente coaguladas.

El movimiento browniano en la materia viva.

El estudio del movimiento browniano en la materia viva, se plantea en un grado de dificultad mucho mayor que en el de los sencillos sistemas dispersos que hemos considerado, por la gran concentración de los sistemas dispersos que la forman.

Las primeras observaciones realizadas a este objeto, creemos

que sean las de Gaïdukow[31] que estudiando células vegetales en vegetales superiores y en algas, observa que las granulaciones del protoplasma, poseen movimientos brownianos, que cesan cuando la célula muere.

Figura 37

André Mayer y Schaffer[32] observaron numerosas células animales al ultramicroscopio y al no encontrar movimiento browniano, establecieron la consecuencia errónea, de considerar el protoplasma como un gel. Las observaciones de este género, son muy delicadas, por la facilidad conque los protoplasmas vivos se alteran y es muy probable que estos observadores, investigarán sobre protoplasmas muertos, en cuyo caso, se comprende perfectamente el error en que cayeron.

Estos estudios no pueden hacerse utilizando fijadores o colorantes, que nos llevarían a consecuencias erróneas, por su acción sobre el protoplasma; es preciso operar sobre células vivas, con preferencia con las que poesen vida autónoma, es decir, sobre organismos monocelulares, cuya vida no cese en las condiciones de la observación.

Figura 38

Cómo le hemos observado.

Para nuestras observaciones tomamos como objeto de estudio una de las razas de *Saccharomyces ellipsoideus* (levadura de vino) que conservamos en cultivo puro y con las que hemos realizado nuestras investigaciones sobre la fermentación alcohólica. Esta levadura, en cultivo joven, presenta al microscopio y aun al ultramicroscopio tal como de ordinario se maneja, un citoplasma perfectamente homogéneo, sin granulación alguna visible; en células de más edad, las granulaciones aparecen, siendo muy nume-

rosas, cuando la levadura se conserva algunos meses en su caldo de cultivo.

Las células jóvenes cuyo protoplasma es aparentemente homogéneo, son las que mejor se prestan a estas observaciones. Como medio de investigación, usamos la combinación de microscopios que ya hemos citado (V. pág. 211) con la combinación óptica (Zeiss) siguiente: objetivo apocromático especial 3 mm., microscopio ocular, objetivo *A* y ocular 1: la preparación se hace en las cámaras de cuarzo y la iluminación con lámpara de arco de 20-25 amperios.

El protoplasma celular heterogéneo.

En estas condiciones de trabajo, el protoplasma, homogéneo a los medios ordinarios de observación, se resuelve en un gran número de micelas, que sin cesar se mueven en su medio de dispersión. Este movimiento, cuya causa es indudablemente como los del movimiento browniano, debida a la energía cinética del medio líquido acuoso de dispersión, es muy lento, como corresponde a las condiciones de concentración y espacio en que se realiza; las micelas resbalan las unas sobre las otras incesantemente y comparado con los movimientos de las mismas micelas dispersas, en las condiciones ordinarias de las disoluciones coloidales, nos recuerda la constitución de los gases y de los líquidos, tal como las teorías actuales les suponen; en los gases, las moléculas recorriendo grandes trayectorias y en los líquidos, por efecto de la viscosidad y

Figura 39

Figura 40

del frotamiento interno, moviéndose perezosamente las unas sobre las otras, a gran presión interna.

Para dar una idea de lo que es el movimiento browniano, puede ponerse como ejemplo un enjambre de abejas, que se mueven libremente, en el que cada individuo, sin cesar de moverse, recorre trayectorias irregulares con movimientos de rotación y de traslación, esto representa al ultramicroscopio una disolución coloidal, pero si suponemos el enjambre encerrado en una vasija de vidrio, veremos los movimientos más lentos, cuanto más pequeña sea la vasija, porque cada abeja dispone a esa gran concentración, de un espacio mucho menor; tan pequeña puede llegar a ser la vasija, que las abejas reduzcan su movimiento a marchar de manera irregular, unas sobre otras. Este es a mi juicio, el caso de la materia viva, comparada con las sencillas disoluciones coloidales, en las que hemos estudiado el movimiento browniano.

La materia viva y los sistemas coloides.

En nuestros estudios hemos observado, que cuando hacemos la preparación ultramicroscópica con caldo en plena fermentación tumultuosa, las micelas que forman el citoplasma de la célula de levadura, se mueven con más facilidad unas entre otras: si se observan las depositadas en el fondo de la vasija (hez) una vez terminada esa fase de la fermentación, es más lento el movimiento y esta lentitud todavía se acentúa, si se observan

células viejas. He aquí un carácter de la materia viva, en relación con su edad.

Acción de antisépticos y de tóxicos.

Estos movimientos, que sin duda alguna los referimos al movimiento browniano, se trastornan por la acción de los antisépticos y cesan por completo, cuando estos obran como tóxicos y la célula muere. El antiséptico con que experimentamos, fué el ácido sulfuroso, sobre el cual investigamos hace algunos años, para deducir que las levaduras se habituan a él[33] y observamos que en levadura no habituada, la presencia del antiséptico a menor dosis que la mortal, refrena la actividad del movimiento micelar del protoplasma. Como tóxico, utilizamos el ión fluor que aun a muy pequeñas dosis, mata rápidamente las levaduras alcohólicas y cuyo efecto lo hemos visto traducido al ultramicroscopio, por la completa cesación de todo movimiento en el protoplasma, siempre heterogéneo de la célula viva.

Estas observaciones definen a juicio nuestro, una relación entre las sencillas dispersiones coloidales y la materia viva, sistemas estos que en sus propiedades presentan algunas analogías. De la materia viva, pasamos a los dispersoides coloidales, por métodos que en algo se asemejan a la evaporación de los líquidos. Volviendo al ejemplo de las abejas, el tránsito se realiza, como se forma de nuevo el enjambre, rompiendo la vasija de vidrio en donde las abejas las habíamos supuesto aprisionadas.

Tránsito de la materia viva a sistema coloidal

Nuestras experiencias, las realizamos con cultivos de infusorios *paramæcium* y de amebas y operamos del modo siguiente: puesto en observación al ultramicroscopio uno de estos sencillos organismos, sin dejar de observar, se añade una pequeña gota de amoníaco, que por capilaridad se difunde en la preparación y alcanza el organismo en observación: el ión OH' solubiliza las capas externas del protoplasma, y libre este de la materia que le aprisionaba, se difunde en el líquido, «brotando como si detonara en el cuerpo vivo del infusorio para salir a rielar, como constelaciones de luz, en el cielo sombrío del campo ultramicroscópico». Así describió esta experiencia que vió en mi Laboratorio el Dr. Royo Villanova[34].

Las figuras 37 y 38 representan respectivamente la imagen de un *paramæcium* y de una *ameba* y los trozos de película nú-

meros 39 y 40, dan idea del tránsito del plasma vivo a sistema coloidal ordinario en cada caso.

Así hemos realizado el tránsito de la materia viva a sistema coloidal; así estaremos en posesión de sistemas coloidales cuya composición química es idéntica a la de la materia viva: de estos sistemas coloidales o de otros químicamente análogos, ¿será posible pasar a la materia viva? He aquí un problema trascendental de la Biología.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. Ramsay, *Societe des naturalistes de Bristol*, año 1881.
2. Mensbrugghe, *Poggend. Annal*, t. CXXXVIII, p. 323, año 1869.
3. Jevons, *Proceed. Manch. Society*, t. XIX, p. 78, año 1879.
4. V. Pöschl, *Introduction a la chimie colloidale*. Trad. de la 3.ª edic. alemana par C. Heymans, p. 14. Bruxelles, 1912.
5. Cantoni, *Nuovo cimento*, t. XXVII, p. 156, año 1867.
6. Ch. Robin, *Traité du Microscope*, p. 526. París, 1871.
7. Seddig, *Physik Zeitschrift*, t. IX, p. 465. 15 Julio 1908.
8. Bliss, *Phys. Rev.*, 2, 1894-95, p. 241 y 373.
9. A. de Gregorio Rocasolano, *Sensibilidad de los coloides reversibles a las acciones iónicas*. Rev. de la Acad. de Ciencias de Zaragoza, t. I, p. 63.
10. Exner, *Wien. Sitz-Ber. Natur. Wissen*, t. LVI, p. 116, año 1867.
11. Gouy, *Journal de Physique*, 2.ª s., t. VII, p. 562, año 1888. «Revue générale des Sciences», t. VI, p. 1, año 1895.
12. Zsigmondy, *Zur Erkenntnis der Kolloide*, t. CXI, p. 106.
13. Ramsay, *Chem. News*, t. LXV, p. 90, año 1892.
14. Pucianti y Vigezzi, *Archivio di Fisiologia*, t. II, p. 318, año 1904.
15. Zsigmondy, *Zur Erkenntnis der Kolloide*, p. 152. Leipzig, 1905.
16. L'ultracondensateur, Dr. Jentesch, «Congrés Königsberg», 22 Septiembre 1910, construído por la casa Leitz.
17. Ehrenhaft, *Wien. Sitz-Ber. Natur. Wissen*, t. CXVI 2 a, p. 1139, año 1907.
18. Wiener, *Pogg. Ann.*, t. CXVIII, p. 79, año 1863.
19. Maltezos, *Ann. Chim. Phys.*, t. VII, p. 559, año 1894.

20. Einstein, *Annalen der Physik*, t. XVII, p. 549, año 1905; t. XIX, p. 371, año 1906.

21. Smoluchowski, *Bulletin de l' Academie des Sciences de Cracovie*, p. 577. 7 Julio 1906.

22. Perrin, «Societé Francaise de Physique», *Les idées modernes sur la constitution de la matiere*. Conferencia sobre *Les preuves de la realité moleculaire*, p. 25. Paris, 1913, y p. 30.

23. Perrin Memoria al Congreso de Bruselas sobre *La theorie du rayonnement et les quanta*. Paris, 1912.

24. *Annales de Chimie et Physique*. Septiembre, 1909.

25. Seddig, *Physik Zeitschr.*, t. IX, p. 465, año 1908.

26. J. Perrin, *Les Atomes*, p. 134. Paris, 1914.

27. Henri Poincaré, *Les rapports de la matiere et de l' ether*. Conferencia en la «Societé Francaise de Physique». Paris, 1913.

28. *Comptes Rendus de l' Acad. des S. de Paris*. t. CXLVI, 1908.

29. Bourrieres, *Comptes Rendus de l' A. des S. de Paris*, 22 Diciembre 1913.

30. A. de Gregorio Rocasolano, *Estudios sobre el movimiento browniano micelar*. Institut d' estudis Catalans, Societat de Biologia, 1916.

31. Gaidukow, *Ber. der. deuts. Bot. Gesell.*, t. XXIV, p. 107, 155, 192, año 1906.

32. A. Mayer y Scheffer, *Comptes Rendus de la Societé de Biologie*, t. LXIV, p. 681. Paris, 1908.

33. A. de Gregorio Rocasolano, *Estudio de la acción del anhidrido sulfuroso sobre una raza de «sacc. ellipsoideus»*. Anales de la F. de Ciencias, n.º 1. Zaragoza, 1907.

34. Royo Villanova, *Revista del Ateneo Cientifico Escolar de Zaragoza*, 11 Abril 1916.

CAPÍTULO VI

LA FASE DISPERSA EN LOS SISTEMAS COLOIDALES

Los constituyentes de la materia viva, se encuentran en muy diversos grados de dispersión, comprendidos entre los compuestos ionizados y las inclusiones, como términos límites: entre estos grados extremos, se encuentran disoluciones moleculares de algunas materias oxihidrogenadas y de otras nitrogenadas, en las que se inicia el grado coloidal, que termina, por ejemplo, en la materia nuclear de las células, claramente heterogénea al microscopio ordinario.

Grados de dispersión en la materia viva.

Los compuestos que en la materia viva se encuentran a menor grado de dispersión que el coloidal, son a veces gruesos gránulos y aun pequeños cristales, que en la mayoría de los casos, representan substancias en reserva o productos de desasimilación y aun cuando en los fenómenos vitales, todos los componentes de la materia viva tienen interés, pues sobre todos ellos se asienta el proceso fisiológico, hay algunos, como los materiales de reserva, que sirviendo de alimento a las reacciones vitales, se destruyen mientras la materia viva asimila, por lo cual, considerados en sí mismos, son materia muerta [1]. Los productos de desasimilación, representan desperdicios sin valor nutritivo alguno, impropios para la vida del organismo que los produce para el que son tóxicos y cuando el organismo no posee órganos de excreción suficientes, los acumula, aunque sosteniéndolos fuera de la circulación vital [2] realizando esta separación las envolventes de las células.

Interesa estudiar todos, absolutamente todos, los componentes de la materia viva, pero el estudio de los que se encuentran dispersos hasta el grado coloidal, es sin duda el más importante, hasta el punto de que algunos establecen la idea, de que el se-

El grado coloidal es el más importante

creto de la vida reside en el estado coloidal, fundados en los estudios de físico-química biológica, realizados en estos últimos años, que han orientado algunos problemas fundamentales de la Biología, estableciendo relaciones de semejanza, entre la materia viva y los sistemas coloidales [3].

Expuestas ya algunas ideas fundamentales sobre el mecanismo a que puede atribuirse, dentro de las ideas actuales, la formación de la fase dispersa en los sistemas coloidales (V. página 89), vamos a estudiar algunas propiedades de las partículas dispersas en estos sistemas, de las que se deducirán como consecuencia, algunas propiedades de la materia viva, constituída en su parte más esencial por coloides.

La micela unidad física.

Las partículas ultramicroscópicas dispersas en los sistemas coloidales que también se las denomina micelas (*), representan una unidad en el concepto físico, persistente dentro de ciertos límites y oponiendo tanto más resistencia a perder su individualidad, cuanto menor sea su tamaño, fenómeno este, que guarda alguna relación con el que se produce, cuando reduciendo el reactivo de Knapp por la glucosa, se observa que el mercurio producido, adopta forma de pequeñas partículas que con ayuda del microscopio, se las ve chocar unas con otras sin perder su individualidad, al contrario de lo que ocurre, cuando dos glóbulos de mercurio suficientemente grandes, se aproximan hasta el contacto, que inmediatamente los une. La persistencia de la individualidad de la micela, se afianza por el hecho de que estas partículas, se encuentran electrizadas en su medio de dispersión.

Forma de la micela.

La forma de la micela, o partícula ultramicroscópica de grado coloidal, no es fácil de reconocer directamente, pues la naturaleza de la imagen que al ultramicroscopio producen, no se presta a deducciones rigurosamente exactas: sin embargo, estudiando los sistemas coloidales a grandes amplificaciones y su movimiento browniano en la fase de rotación, se deduce que en algunas, como en las dispersiones de gelatina, la forma de la micela, debe ser muy próxima a la esférica, en otras como por ejemplo las albuminas, parecen ser de elipsoides poco alargados y por último, las de nucleina de levadura, parecen elipsoides bastante alarga-

(*) Diminutivo del vocablo latino *mica* en su significado de partícula. (Malfitano).

dos. El estudio de la forma de la micela, tiene interes, porque la variación de forma, trae como consecuencia variación de superficie para una masa dada y esto, modifica la intensidad de los fenómenos debidos a acción de superficie, que se realizan entre coloides.

Siedentopf y Zsigmondy [4] supusieron que en las dispersiones coloidales de oro, las partículas tienen forma de discos, hipótesis que no es admisible, pues del estudio de las curvas de absorción en las disoluciones coloidales de oro y de plata, deduce Gans [5] que la forma de sus partículas, es muy próxima a la esférica.

Sistemas resolubles e irresolubles.

El tamaño de la micela está comprendido entre los límites 0,1 μ y 0,001 μ que les asigna la sistemática de Ostwald, pero su determinación exacta en cado caso, es problema de mucho interés aunque se presenta lleno de dificultades. Los sistemas coloidales, atendiendo al tamaño de sus partículas dispersas, se clasifican en *resolubles e irresolubles*, con concepto análogo, a la clasificación de las nebulosas; son los resolubles, los coloides cuyas partículas dispersas están dentro del límite de visibilidad, observados con el ultramicroscopio, constituyendo medios que con este método de observación, se resuelven en sistemas heterogéneos, perfectamente reconocibles, e irresolubles, los que aun con ayuda de este medio de observación, no se resuelven, porque sus partículas no aparecen visibles.

En algunos casos, los coloides son irreversibles, no por el pequeño tamaño de sus partículas, sino porque por sus propiedades ópticas en relación con las del medio de dispersión, no son visibles, pues su poder de absorción o su índice de refracción son análogos: en esta categoría, se incluyen muchos coloides orgánicos, pero debemos advertir, que estos serían resolubles, disponiendo de buena iluminación, utilizando el condensador cardioide y teniendo en cuenta al hacer las preparaciones, los detalles que expusimos en el Cap. IV.

Paso de sistemas irresolubles a resolubles.

Los coloides irresolubles, pueden mediante una acción que modifique el grado de dispersión, convertirse en resolubles; por variación del tamaño de la micela; tal ocurre por ejemplo en el trisulfuro de arsénico preparado en ciertas condiciones, que es coloide irresoluble, hasta que por la presencia de una mínima

cantidad de ácido clorhídrico, se modifica de tal modo que las micelas se hacen perfectamente visibles; en otros casos, la acción del calor o cualquier otro agente, que modifique el equilibrio del sistema, convierte un coloide irresoluble en resoluble. Este hecho es general, pues en todos los coloides y esto se aprecia bien por observación directa al ultramicroscopio, el tamaño de la micela depende de la cantidad de iones en presencia, y hasta de la especifidad de estos, para coloides determinados. Los trabajos de Henriot[6] sobre coloides de oro, demuestran que sus micelas no son gránulos de metal, sino compuestos ricos en oro que contienen además de los elementos del agua (grado de hidrofilia) cantidades apreciables de cloro. Entre los hechos de observación que sobre este asunto hemos encontrado, citamos el aumento de tamaño de la micela de plata Bredig, por la presencia de electrolitos, principalmente por los que contiene el ion Cl', aumento del que por observación directa, podemos darnos perfecta cuenta.

Determinaciones del diámetro de las micelas.

Las determinaciones del diámetro de partículas de grado coloidal, hechas por Siedentopf y Zsigmondy, se refieren a dispersoides de oro en vidrios coloreados o en medio acuoso; el método fundamentalmente muy sencillo, consiste en determinar por el análisis la cantidad real de oro, en un volumen dado del dispersoide, contar las partículas que se encuentran en un volumen conocido muy diluído, y el cociente de estas dos cantidades referidas a un mismo volumen, será la masa media de cada partícula, suponiendo que el oro, conserva en este estado coloidal una densidad análoga a la que posee en el estado sólido, lo que puede admitirse, porque de las determinaciones de Cholodny[7], se deduce que la densidad de la micela en los coloides de oro y de plata, es muy aproximadamente igual a la del metal sólido.

Errores del método Siedentopf Zsigmondy.

Este método que hemos encontrado puesto en práctica, da unos resultados que no tienen los caracteres precisos de exactitud, porque supone que todo el oro, se encuentra en estado coloidal y que el grado de dispersión, es para todas las partículas el mismo; éstas condiciones que han supuesto los investigadores citados, no se realizan en la práctica, pues dispersos en el medio de dispersión de los coloides metálicos, se encuentran iones del mismo metal. Por otra parte, el contar las micelas agitadas por el movimiento browniano, es una operación en la que

seguramente se cometen errores de importancia, pues no es posible operar con garantías de exactitud; en cambio si las micelas se inmovilizan por acciones iónicas, el contarlas es cosa fácil, y así para otro género de investigaciones lo practicamos en nuestro Laboratorio. Por ejemplo, añadiendo a 20 c. c. de hidrosol de plata Bredig 5 c.c. de una disolución normal de cloruro de potasio, las micelas aparecen todas inmovilizadas, pero sin que se adhieran unas a otras y el contarlas proyectando con ayuda de una cámara clara, según el método clásico, o fotografiando el campo, y este es medio más exacto, y aplicando una retícula, operando con amplificación bien conocida, los resultados son siempre satisfactorios. La fig. núm. 41 representa un campo de micelas de plata, inmovilizadas como queda dicho, y montado el microscopio ob. especial 3 milímetros ocular 5 amplificación 1.000. *D.*

Figura 41

Por otra parte, las micelas y el agua medio de dispersión, o los iones en presencia, forman compuestos de adsorción con evidente variación de volumen, y la temperatura al modificar la tensión de vapor del medio de dispersión, modifica esos compuestos: en el caso del oro, como en el del platino, esta causa de error se reduce al mínimo, pero en otros casos mucho más importantes, el de las albúminas por ejemplo, estas consideraciones bastan para hacer inaplicable el método por el alto y variable grado de hidrofilia que poseen estas micelas. No hay que olvidar y esto complica más el problema, que en muchos casos, no se conoce la composición química de las micelas y en otros y esto es peor, se tiene de esta composición una idea equivocada, como citaremos al tratar del transporte eléctrico.

Las ideas de von Weiman que considera la micela como un microcristal (V. pág. 94), han sido refutadas por Malfitano, que la considera como un complejo de complejos, formado por complejos que, según los equilibrios físico-químicos, se agrupan entre

sí y con los iones en presencia, constituyendo complejo de complejos que en último término, son las micelas: este proceso de formación es, según estas ideas, esencialmente químico, y la masa de las partículas dispersas así formadas, será definida para cada grado de complejidad.

Importancia de estas determinaciones.

Sin embargo, apesar de estas dificultades, la solucion del problema tiene gran interés, y debe acometerse, porque el conocimiento de los diametros de las micelas, en determinados medios de dispersión y a temperaturas dadas, nos llevaría a deducir su actividad bioquímica, como consecuencia de su grado de dispersión, por lo cual la posesión de un metodo general que condujera a este resultado, sería del mayor interés.

Varios otros métodos se han propuesto, fundados en aplicación de algún carácter físico del coloide, como el coeficiente de difusión [9], etc., pero en todos ellos, es muy grande la dificultad práctica para hacer la determinación y de muy poco valor el número que se obtiene.

Relatividad de nuestro método.

Por nuestra parte hemos intentado deducirlo por aplicación de una de las fórmulas de Einstein y al tratar del movimiento browniano, exponemos el método y lo discutimos (V. pag. 208), deduciendo que los resultados pueden considerarse no como absolutos, sino como relativos.

Determinaciones por métodos interferenciales.

Un método por el cual se obtendrían seguramente muy buenos resultados, sería el de determinar los diámetros de las partículas ultramicroscópicas por determinaciones interferenciales, y aun cuando contra todo nuestro deseo, no nos ha sido posible hacer una sola medida de esta naturaleza, daremos idea de lo que debe ser el método. Cuando con buena iluminación y una preparación ultramicroscópica bien montada, se observa la imagen ultramicroscópica de una partícula, aparece esta como un pequeño disco, envuelto por un sistema de anillos concéntricos, originados por la difracción debida a la limitación circular del haz luminoso que atraviesa el aparato: en el estudio de este fenómeno, fundaron Helmholtz y Lord Rayleigh su teoría del poder de resolución del microscopio, llegando a la misma fórmula final, que la clásica teoría de Abbe.

Las figuras números 42 y 43 representan preparaciones ultramicroscópicas en las que pueden observarse apesar de las im-

perfecciones del negativo, los anillos de difracción a que nos referimos; esta preparación, en la que fué preciso inmovilizar las micelas para poder hacer la fotografía, la obtuvimos del modo siguiente: de una dispersión acuosa de albúmina vegetal (Merck) se coloca una gota en porta objetos calibrado, se cierra la preparación y se calienta lenta y progresivamente, hasta 85° así por desecación, inmovilizamos las micelas (fig. 42). En la fig. 43 operamos de otro modo que creemos preferible y que es un método general, que aplicamos con buen éxito, siempre que interesa la inmovilización de las pequeñas partículas ultramicroscópicas para contar, fotografiar, etc.: consiste nuestro método, en poner iones a concentración conveniente, en presencia de las micelas; la disolución coloidal de que partimos, era de seroalbúmina, a la que añadimos un poco de disolución de sulfato amónico y montamos la preparación en las cámaras de cuarzo.

Figura 42

Este fenómeno de difracción a que nos referimos, no es el que otros investigadores citan, refiriéndose a la aparición de franjas de difracción, cuando observan gruesas partículas, que son en definitiva, anillos de Newton bien caracterizados, por las franjas concéntricas absolutamente negras que envuelven a las coloreadas, mientras que los anillos de difracción producidos por las pequeñas micelas albuminoideas, no presentan claramente los anillos negros, porque su formación, aun siendo como en los de Newton un fenómeno de difracción, se realiza en condiciones de mayor complejidad, por el mayor número de rayos luminosos que en su

Figura 43

formación intervienen. Los anillos de Newton son un tipo clásico de fenómeno de interferencia, en cuya formación intervienen teóricamente dos rayos luminosos, mientras que en la formación de estos otros anillos, intervienen teóricamente mayor número de rayos de luz.

Muy interesantes consecuencias podrían deducirse del estudio de estos anillos, pero nuestros medios de trabajo, no nos han permitido avanzar más en su estudio.

Franjas de difracción que las micelas producen.

Las franjas que acompañan a las imágenes de las partículas ultramicroscópicas, cambian considerablemente de forma, posición y aspecto, al variar la figura del orificio que limita el haz luminoso que se utiliza. Si suponemos, por ejemplo, que se coloca encima del objetivo, una pantalla en la que se hayan practicado dos hendiduras rectilíneas y paralelas [10], no se presentará ya el sistema anular de franjas en la imagen de la partícula ultramicroscópica, pero en cambio, aparecerá esta imagen bajo forma de una estrecha banda luminosa, interrumpida por franjas obscuras, cuya dirección será perpendicular a la de las hendiduras. Este sistema de franjas, es el que podría utilizarse para medir el diámetro de las micelas, por el estudio de los cambios que experimenta la visibilidad del sistema de franjas, al variar la distancia que separa las dos hendiduras. Las mayores dificultades de este método, serán debidas principalmente [11] a la falta de intensidad luminosa.

El rayo de luz como micrómetro.

En último término, se trata de aplicar al ultramicroscopio, el método propuesto por Fizeau para determinar el diámetro aparente de las estrellas fijas. Michelson, en 1890, midió con este método, el diámetro de los satélites de Júpiter, operando con dos rendijas colocadas sobre el objetivo de un telescopio; este mismo investigador, tomando el rayo de luz como patrón de longitud, midió el metro de París. Estas determinaciones, así como la proyectada para deducir el diámetro de las micelas, tienen como base las interferencias, pues si bien es cierto que el rayo de luz en un micrómetro exactísimo (Fizeau), también lo es que camina rapidamente en el espacio y el rayo patrón, ha de ir perseguido por otro rayo de luz de igual velocidad, que interfiera con él.

Relacionando el diámetro de las micelas, con las determinaciones hechas para determinar diámetros de moleculas, encon-

tramos que por las determinaciones hechas por Nernst[12], partiendo del libre recorrido medio de las moléculas y haciendo aplicación de unas formulas de Clausius y Maxwell, se deduce, suponiendo esféricas las moleculas, que su diametro, en el caso del gas carbónico, es 0,29 $\mu\mu$, es decir, unas 30 veces menor que el diámetro que hemos calculado para las micelas de ovoalbúmina.

Interpretación de caracteres diferenciales de albúminas y globulinas.

De la aplicación que hicimos de nuestro método para determinar el diámetro relativo de las micelas por el espacio que recorren en su movimiento browniano de traslación (V. pág. 207), se deduce que las micelas de ovoalbúmina, son de menor diámetro que las de ovoglobulina y esta diferencia en sus diámetros, sirve para interpretar los caracteres distintivos de las albúminas y de las globulinas. El cociente proteico del plasma sanguíneo (relación entre la seroglobulina y la seroalbúmina), aumenta en la inanición (Bunge), de donde se deduce, que la materia plasmadora de los órganos, se transporta en forma de glóbulina de unos a otros: en la inanición, la materia muscular es la que nutre a las glandulas y a los otros órganos, cuyo peso subsiste inalterable durante el ayuno, siendo por consecuencia los músculos, órganos de reserva de substancias proteicas.

El mayor grado de dispersión de las albúminas, hace que este albuminoide sea más estable, presentando mayor resistencia a la coagulación, las globulinas, en cambio, coagulan con mucha mayor facilidad.

De un modo general puede afirmarse, que el tamaño de las micelas de los diferentes compuestos albuminoideos, es indudablemente distinto y estas diferencias, que producirán como consecuencia diferentes superficies, para masas iguales, será la clave para explicar la multitud de procesos físico-químicos de los organismos, que son consecuencia de la transformación de la materia albuminoidea.

Variación del tamaño de las micelas.

El tamaño de las micelas, según ya hemos indicado al tratar de los coloides irresolubles, varia, entre otras causas, por la presencia en el medio de dispersión de ciertos iones para cada caso. Las magnitudes de las micelas, no son consecuencia de una división puramente mecanica, sino que sus tamaños son el resultado de procesos físico-químicos, en los que se constituyen com-

plejos moleculares, definidos por estados de equilibrio entre los componentes del dispersoide. En los coloides orgánicos, en las albúminas principalmente, es muy difícil comprobar analíticamente esta afirmación, pero en los casos de coloides minerales, esta comprobación puede hacerse.

Malfitano, demostró este hecho experimentalmente, para el caso del hidrosol de hidróxido férrico [13], obteniendo este sistema coloidal, calentando hasta ebullición una disolución de $Cl_3\ Fe$ al 5 por 1.000 y lavando al filtro de colodión (ultrafiltración). Separando del coloide así obtenido, el líquido intermicelar, se reconoce que contiene ácido clorhídrico, pero no hierro: dosificado el cloro del ácido clorhídrico del medio de dispersión y por otra parte, el cloro total del sistema coloidal disperso, se reconoce que hay más cloro en el coloide en conjunto que en el líquido intermicelar, luego una parte de este elemento, le contienen las micelas. Ahora bién, si se diluye el sistema con agua destilada para aumentar la masa, se observa, como consecuencia del análisis, que el agua sustrae cloro a las micelas e inversamente, si se añade un poco de ácido clorhídrico, las micelas toman del medio mayor cantidad de cloro. Estas pequeñas variaciones de composición química de las micelas, traen como consecuencia una variación en sus diámetros, pues cuando al hidrosol a que nos referimos se añade ácido clorhídrico, constituye un sistema irresoluble de gránulos muy pequeños, formando un medio casi ópticamente vacío, mientras que cuando por adición de agua, la micela se empobrece en cloro, aumenta de diámetro, el sistema es resoluble, llegando por incremento del tamaño micelar, hasta a formar líquidos turbios.

Figura 44

Más hechos de observación.

Confirmamos experimentalmente estas ideas, por diversas experiencias. Un dispersoide de ovoalbúmina que inmolizadas sus micelas, presenta al ultramicroscopio un campo como representa la fig. 44, si se provoca la reacciónd el biuret, en el líquido transparente que se produce, aparecen las micelas como repre-

senta la fig. 45 con tamaño mayor, según a simple vista se reconoce. En la observación directa se aprecia mejor esta variacion y en la fotografía, aparecen algunas masas micelares formando coágulo porque por la acción iónica, se inició la coagulación. Las micelas de un hidrosol de plata Bredig, aumentan de tamaño y la observación directa nos lo demuestra, cuando se añade al coloide una disolución iónica, cloruro o cromato de sodio o potasio por ejemplo.

Operando con hidrosoles de oro, hemos podido comprobar fenómenos análogos: el oro coloidal, rojo rubí, obtenido reduciendo el cloruro de oro por la glucosa, según detallamos (V. página 84), tiene sus micelas mucho más pequeñas que las del oro coloidal violeta, que obtenemos por el mismo procedimiento, sin más variación, que la de añadir mayor cantidad de carbonato potásico, lo que representa una mayor alcalinidad y por consecuencia mayor cantidad de iones en presencia.

Figura 45

Otro hecho de observación que puede sumarse a los ya citados, es el de que los dispersoides albuminoideos, por adición de hidróxido de sodio, disminuyen de tal modo el diámetro de sus micelas, que el sistema alcanza el grado de coloide irresoluble.

Estas variaciones del tamaño de la micela por acciones iónicas, que como veremos luego, modifica la actividad química del coloide disperso, tienen el mayor interés en el estudio de los fenómenos vitales, pues significan una gran variación de superficie, en las pequeñas masas de los cuerpos dispersos. Las variaciones de acidez de los humores, tendrán una gran importancia bajo el punto de vista fisiológico, pues determinarán una variación en su actividad bioquímica.

Efectos de las fuerzas moleculares.

Las llamadas fuerzas moleculares, aunque poseen gran intensidad, solo pueden observarse ejerciendo efecto útil, a pequeñísimas distancias, pero su influencia es tan grande, que anulan la fuerza de la gravedad. Estudiando Laplace los fenó-

menos de capilaridad, observó que sus efectos aumentan, a medida que disminuyen los diametros de los tubos, o de otro modo, a medida que aumenta la superficie de los cuerpos con relación a su masa; los trabajos de Sabatier, sobre la producción de acciones catalíticas por la presencia de metales muy divididos; la variación de las propiedades de algunos metales por su elevado grado de división, así por ejemplo, el mercurio en estado coloidal, no se amalgama con el oro, etc., etc.; todo esto demuestra, que para los casos en que las masas se encuentran muy divididas y presentan por consecuencia una gran superficie, no se cumplen siempre todas las leyes a que las grandes masas están sujetas. El fenómeno del movimiento browniano no es, en último término, más que consecuencia de una relación de superficie a masa.

Fenómenos de adsorción.

Entre los fenómenos peculiares de las masas que presentan grandes superficies, estudiaremos en primer término los de adsorción, que en los sistemas coloidales tienen gran importancia, porque todos están en el caso de una gran superficie con relación a su masa, para deducir después, el interés que su estudio tiene en los fenómenos bioquímicos.

Constituyen los fenómenos de adsorción, la propiedad que poseen todas las masas de gran superficie, de retener, condensándolas, algunas materias con las que se pongan en contacto. El carbón vegetal, que posee con relación a su masa una gran superficie, pues subsisten en él carbonizadas, las paredes celulares del vegetal, condensa con facilidad gases, por la presión que se desarrolla al contacto del gas con el sólido poroso.

Cuando se agita con arena muy fina una disolución de una sal, disminuye la concentración salina, porque la superficie de las partículas sólidas sumergidas, atrae parte de la sal que en el líquido se encuentra dispersa.

Adsorción por las tierras.

Se produce una serie interesantísima de fenómenos de adsorción, entre las tierras y las aguas, por virtud de los cuales, las tierras adsorben algunas sales, por ejemplo las amónicas y las potásicas, y no adsorben las de sodio, los cloruros, etc. Estos fenómenos, por los que la tierra parece poseer la propiedad de elegir para retenerlas unas sales, sin retener otras de distinto género o especie, se explican por el aumento de presión, que como

consecuencia de una acción de superficie se realiza, cuando las aguas que contienen las sales se ponen en contacto con la tierra, que por su gran desmenuzamiento y la presencia de coloides, presenta una gran superficie. Ahora bien, para algunas sales (las adsorbidas), el coeficiente de solubilidad aumenta con la presión y envolviendo las partículas de tierra, quedarán adsorbidas estas sales, en forma de disoluciones relativamente concentradas y progresivamente las aguas se empobrecerán, en las sales que posean en alto grado aquella propiedad; las materias salinas no adsorbidas, son aquellas cuyo coeficiente de solubilidad varía poco con la presión y para ellas la acción eficaz de la superficie será casi nula: estas sales son las que circulan por la tierra y disueltas en el agua, al no ser adsorbidas, llegan a los mares y allí se almacenan. Como tipo de estas sales, puede citarse el cloruro de sodio.

Experimentalmente y de modo muy sencillo, pueden representarse estos fenómenos, dejando caer sobre una hoja de papel de filtro, una gota de tintura de tornasol: observaremos como se extiende en círculos concéntricos, pero la materia colorante que es adsorbida, no se verá por transparencia más que en el trozo mojado por la gota en el momento de caer, los anillos concéntricos son incoloros, como formados solo por el disolvente. Inversamente, si la gota que se deja caer sobre el papel filtro es una disolución diluida de cloruro férrico o de ferricianuro potásico, sales que el papel no adsorbe, observaremos por transparencia el centro de la gota incoloro y en los bordes, aparece la sal no adsorbida, en los anillos concéntricos que se forman al extenderse la gota.

Adsorción por los coloides.

Estos fenómenos se manifiestan todavía con mayor energía, cuando la adsorción se verifica entre coloides, y ejemplos de esta naturaleza presentan la producción de geles, en presencia de algunas materias colorantes (por ejemplo hidróxido alumínico en presencia de fuchina), o ciertos jugos orgánicos coloreados, en presencia del negro animal (refinación del azúcar, por ejemplo); el fundamento de la tintorería, se encuentra en fenómenos de esta naturaleza así como el efecto de determinados filtros, como purificadores del agua potable, adsorbiendo la materia orgánica que el agua contiene dispersa.

Los fenómenos de adsorción, en su forma más sencilla, se reducen a fenómenos de adhesión molecular, pero cuando se realizan entre coloides, más si éstos son como los de la materia viva, de composición química muy compleja, se verifican por adsorción de iones, delicadísimos procesos físico-químicos, análogos a los correspondientes a algunos sencillos fenómenos vitales, pues hay que advertir, que por ser originados estos fenómenos de adsorción por acciones de superficie, la materia en estado coloidal, se encuentra particularmente dispuesta a ello, por la enorme superficie que presenta. Sirva como ejemplo el hecho, de que a un gramo de oro coloidal, se le calcula una superficie de 30 metros cuadrados, asignando a la micela de oro la superficie de un cubo de 0,01 μ de lado: de este mismo metal, tipo de metales maleables, extendido en hojas finísimas (pan de oro), un gramo alcanza una superficie de 1,4 metros cuadrados como máximo.

Variación de propiedades de la materia, por su grado de dispersión.

Esta notable variación de superficie, explica las distintas propiedades que un mismo cuerpo, el platino por ejemplo, presenta, según se encuentre en masas compactas o en forma coloidal: el hidrosol de platino, es particularmente activo para descomponer por ejemplo el agua oxigenada, y no debe extrañarnos que los cuerpos a este grado de dispersión, tengan propiedades distintas a las que presenta la misma materia en estado compacto, como admitimos y racionalmente se explica, que el sodio metálico, no tiene las propiedades del sodio ion y en general, que los cuerpos simples que conocemos, tengan muy diferentes propiedades, que los de los iones que forman, cuando sus sales se disuelven por ejemplo en el agua.

Estudiando ahora el fenómeno de la adsorción, por lo mucho que interesa para poder explicar algunos fenómenos vitales, conviene fijar el concepto de que la cantidad de materia adsorbida, depende de la naturaleza del adsorbente, de la concentración, y de las propiedades físicas del cuerpo adsorbido.

Naturaleza de las fuerzas que producen la adsorción.

Afirma Arrhenius, que las fuerzas que producen la adsorción, son del mismo orden y de la misma naturaleza, que las que causan la atracción mutua de las moléculas de los gases[14]: la comprensibilidad de los fluídos, muestra una cierta analogía con la adsorción; en este caso, la presión se identifica con la presión

exterior aumentada en la presión $\frac{a}{v^2}$ que figura en la fórmula de Van der Waals. La cantidad adsorbida, corresponde a la cantidad de flúido que se encuentra en la esfera de acción de las fuerzas moleculares y es evidentemente proporcional a la densidad del líquido.

El estudio teórico que de la adsorción ha realizado Freundlich [15], comprende las diferentes formas de este fenómeno, algunas de ellas del mayor interés, por su aplicación a varias reacciones bioquímicas y en este mismo orden, los trabajos de Gengou [16], a los que más adelante haremos referencia, estudian el papel de los coloides en la estabilización de las suspensiones, refiriéndose a la formación de complejos, formados por la fase dispersa y la substancia adsorbida, que mediante la centrifugación, pueden separarse del sistema.

Variaciones de la adsorción.

Para expresar las variaciones de la adsorción, en función de la concentración del cuerpo que es adsorbido, se enuncia una ley exponencial según la cual, el cuerpo adsorbido, se fija primero de un modo muy intenso sobre el cuerpo adsorbente; después, la adsorción es menor hasta que el cuerpo, por decirlo así, se satura. Es decir, que la cantidad adsorbida tiende hacia un límite máximo, cuando la concentración aumenta y Schmidt [17] propone una fórmula para expresar esta particularidad, que es la siguiente:

$$\text{Log}\ \frac{S}{S-a} - A\,a = \frac{C}{K}$$

en la que S representa la cantidad máxima adsorbida; a, la cantidad adsorbida, C concentración o presión si el cuerpo es gaseoso; A y K son dos constantes.

Trabajos de Arrhenius.

En sus estudios experimentales ha observado Arrhenius, una regularidad en los valores de S y de A de tal modo, que el producto $S \times A$ es sensible constante defiriendo muy poco, del valor 0,4343 que es igual, a 1 : log 10 y en vista de este resultado, deduce Arrhenius, que la ecuación de Schmidt, corresponde a la ecuación diferencial siguiente:

$$\frac{da}{dc} = \frac{1}{K} \cdot \frac{s-a}{a}$$

cuya significación, representa con bastante exactitud el fenómeno de la adsorción: s es siempre mayor que a: si a se aproxima al valor límite, $s - a$ se hace muy pequeño, es decir, que aumentando la concentración en una cantidad $d\,c$, la cantidad adsorbida aumenta también, pero muy poco. La ecuación diferencial expresa también, que a no puede ser mayor que s pues para este caso, $\frac{d\,a}{d\,c}$ sería negativo y ello es imposible, para todo caso de equilibrio estable.

Los valores de s, son característicos para cada cuerpo y no varían con la temperatura, que hace variar en cambio, los valores de K, según la fórmula exponencial:

$$\log K^t = \log K^o - 0{,}009.608 \cdot t$$

El equilibrio de la adsorción, como en los casos de repartición de una substancia entre dos disolventes, se establece rápida y exactamente, siendo tanto mayor la cantidad relativa de substancia adsorbida, cuanto más diluída sea la disolución primitiva, que se empobrece por la adsorción, deduciéndose de los trabajos de Biltz, que el adsorbente [18] no actúa como un disolvente, sino de manera muy distinta.

Mecanismo de la adsorción.

La interpretación del mecanismo íntimo de la adsorción, ha dado lugar a establecer algunas teorías. La llamada teoría química, sostenida entre otros, por Bemmelen, Vambel, Reychler y Robertson, supone que los fenómenos de adsorción son fenómemenos de combinación química de naturaleza particular: el equilibrio de adsorción, es análogo a un equilibrio químico, pero las leyes que rigen la formación de los complejos o compuestos de adsorción, son menos rígidas que las que se refieren a la formación de compuestos químicos: por ejemplo, las leyes estequiométricas de las proporciones definidas y de las múltiples, no son aplicables. Por otra parte, la marcha de los fenómenos de adsorción, no está relacionada únicamente con la naturaleza química de los cuerpos en presencia, sino que el estado físico desempeña un importante papel y de este hecho se ha partido, para establecer una teoría física del fenómeno.

Lo más racional es, que la adsorción se coloque entre la física y la química, considerándola como un fenómeno físico-

químico y algunos investigadores, Quincke y Freundlich, entre ellos, atribuyen a la tensión superficial, el principal papel para la interpretación de estos fenómenos, hipótesis que parece muy racional, cuando se observa entre otros fenómenos, el de la concentración de las disoluciones en las superficies de contacto.

La micela es un sistema químico inestable.

Por consecuencia de los fenómenos de adsorción, las micelas que por consideraciones de orden físico mantienen su integridad, representando verdaderas unidades, en el orden químico, constituyen sistemas muy inestables, por la facilidad que con otras substancias en presencia, iónicas o moleculares, y aun con el medio de dispersión, forman compuesto de adsorción, cuyo equilibrio varía con las pequeñas variaciones de concentración en presencia, con la temperatura, etc., etc.

Hidrofilia de las micelas albuminoideas.

Interesa especialmente para aplicar este estudio a la interpretación de algunas propiedades de la materia viva, considerar el caso en que las micelas, las albuminoideas principalmente, se unen con el agua, medio de dispersión, formando verdaderos compuestos de adsorción. En general, los coloides presentan este fenómeno de retención del agua en que se encuentran dispersos (hidrofilia), pero el poder de retención, varía con la naturaleza del coloide y entre todos, son las materias albuminoideas, las que se retienen en mayor cantidad, pues llegan a poseer el 90 por 100 de agua, tanto como los leucocitos y muchos infusorios, los amiloides principalmente. Las micelas protoplasmicas, son las que presentan más intensa esta forma de adsorción que produce la hidrofilia micelar. Pero el fenómeno no es absolutamente general, pues algunos coloides, no adsorben el agua en que se encuentran dispersos, ejemplo varios lipoides, y a estos lipoides se les denomina *hidrófobos*.

Coloides hidrófobos.

Efecto de la gran cantidad de agua que la micela albuminoidea retiene por adsorción, los hidrosoles albuminoideos, así como los complejos coloides de la materia viva, son más estables que los coloides, que como los metálicos, la retienen en menor cantidad. Esta forma de adsorción tiene una intensidad proporcionada a la diferente superficie que presentan las micelas de los distintos albuminoides, siendo por lo tanto función del tamaño real de la micela.

Relacionado este hecho con otro análogo estudiado detalla-

La micela albuminoidea es un compuesto de adsorción.

damente por van Bemmelen [20] referente a la adsorción de agua que realizan las micelas de los hidróxidos metálicos, conceptuamos la micela albuminoidea, como el resultado de una combinación por adsorción de las moléculas albuminoideas con el agua, en cantidad variable de este componente, con la temperatura, en función de las tensiones de vapor del agua medio de dispersión y del agua adsorbida, pues en cuanto estas dos tensiones se equilibran, la adsorción cesa, siendo consecuencia de este fenómeno, la acción del calor sobre los dispersoides albuminoideos y consecuentemente sobre la materia viva, que aun en los casos en que aparentemente, por ser pequeña la variación de temperatura no se aprecia modificación alguna, el ultramicroscopio denuncia variaciones a las que más adelante, al tratar de la coagulación, nos referiremos.

Este elevado poder de imbibición que presentan las micelas albuminoideas, les da caracteres de analogía, bajo el punto de vista de su poder refringente, con el líquido intermicelar, y por esta causa, son difíciles de observar al ultramicroscopio, pues con facilidad se presentan a los medios ordinarios de observación, como coloides irresolubles, no por el tamaño de sus micelas, sino por sus propiedades ópticas, de aquí que cualquier medio que modifique su índice de refracción, la adición de agua, por ejemplo, facilita su observación, cuando forma parte de la materia viva.

Energía de superficie.

Cualquier variación de hidrofilia micelar como la de otro complejo de adsorción que consideremos, trae como consecuencia una variación en el tamaño de la micela o en otros términos, de su superficie, a los que corresponde una variación de energía, según la noción de energía de superficie, introducida en la ciencia por Ostwald. Una superficie, representa una cantidad de energía, igual al producto de su extensión por la tensión superficial, de manera que una variación de superficie o de tensión superficial, corresponde a una variación de energía en el sistema: las variaciones de composición química, traen como consecuencia una variación en la tensión superficial.

Tensión superficial.

Las moléculas que forman la superficie de un líquido, no pueden moverse libremente en todos los sentidos, como las moléculas de la masa, sino que solamente pueden moverse hacia

el líquido, porque hay fuerzas que se oponen a que se muevan hacia fuera o sea en el sentido de alejarse del líquido. Estas fuerzas, son de intensidad considerable y equivalen, según se deduce del concepto de mecánico de estas acciones, a la mitad del trabajo necesario para transformar en vapor la porción líquida que se aleje de su masa. De la existencia de estas fuerzas, dedujo Young en 1804, la noción de tensión superficial.

Variaciones de la tensión superficial.

El valor de tensión superficial, depende de la naturaleza del líquido y es sensiblemente proporcional a la temperatura, habiendo una temperatura, para la cual esta fuerza será sensiblemente anulada, que según Frankenheim, coincide aproximadamente con la temperatura crítica del cuerpo de que se trate.

Las variaciones de tensión superficial en las suspensiones, ha sido estudiada por Zlobicki [21], deduciendo que tiene un valor sensiblemente igual que la del medio de dispersión y si se añade un electrolito, la tensión de la fase dispersa aumenta hasta un máximo, produciéndose una precipitación seguida de un descenso de tension.

La tensión superficial en los coloides.

Del estudio de la tensión superficial de los coloides, hecho por Iscovesco [22], se deduce que las conclusiones de Zlobicki se confirman en los coloides inorgánicos, pero no en los de alto grado de hidrofilia: los lipoides, hacen descender la tensión superficial y de este hecho, deduce notables conclusiones, sobre la regulacion de tension superficial en los organismos y sobre la importancia de su valor de los líquidos inyectables en los organismos, que juzga de tanta importancia como las variaciones de presión osmótica.

En los músculos contráctiles y turgentes, la hidrofilia micelar es muy elevada, pero a medida que van perdiendo contractilidad, la hidrofilia disminuye y estas variaciones, relacionadas con la de tensión superficial, tienen mucho interés para el estudio de la transformación de la energía química en mecánica en los organismos vivos.

Formación del edema.

Los trabajos de Fischer sobre la formación del edema [23], relacionan su aparición con las variaciones del volumen micelar: la formación del edema, se atribuía al éxtasis anormal de los humores, como consecuencia de aumento en la presión sanguínea y de la permeabilidad de las paredes vasculares, pero

Fischer demostró experimentalmente, que aquella hinchazón de los tejidos, se produce siempre que en presencia de cantidad suficiente de agua, aumenta el poder de imbibición de los coloides de los tejidos, rebasando el grado normal; este aumento, es consecuencia de una variación de superficie, consecutiva a una variación de tamaño micelar.

Envejecimiento de los coloides.

La micela, no es un sistema químico estable, pues se modifica de una manera lenta y continua. Estas transformaciones que por analogía pueden denominarse envejecimiento de los coloides, constituyen un proceso de deshidrataciones, según han demostrado las investigaciones de Samec, que se realiza sobre las micelas y que trae como consecuencia, una reducción de volumen y de superficie: Zsigmondy y Bachmann han confirmado estas observaciones, operando sobre el palmitato de sodio. Aplicadas estas ideas a los sistemas coloidales que constituyen la materia viva, puede comprenderse la vejez de los organismos, como consecuencia de las modificaciones que en el quimismo celular, producen las variaciones químico-físicas de las micelas.

Teoría histológica de la vejez.

Por grados insensibles y por consecuencia de la acumulación progresiva de pequeñas perturbaciones, se inicia en los elementos histológicos, una decadencia o degeneración que se denomina vejez o senectud. Metchnikoff, ha desarrollado una teoría sobre el mecanismo de la senectud general [24]: los fagocitos, atacan las células del organismo que a su vez se defienden, segregando substancias solubles que los rechazan; a los fagocitos devoradores de células del organismo, les llama Metchnikoff *macrófagos* y supone que las reacciones fagocitarias, se realizan durante toda la vida, pero al envejecer, los macrófagos atacan con mayor éxito a las células, por lo cual, muchos de los órganos tienden a atrofiarse, apareciendo la vejez, como consecuencia del desequilibrio, en las relaciones normales de los elementos entre sí; el envejecimiento se traduce por una proliferación del tejido conjuntivo y así llega la esclerosis, que representa la vejez de los órganos. Metchnikoff cree que modificando la flora intestinal, puede atenuarse la vejez, y la medicación antipútrida a base de kefir, de yahourt, de leche agria [25], daría como resultado la longevidad

Las ideas de Metchnikoff que acabamos de citar, estudian

la vejez con criterio histológico, pero la vejez y la muerte, según afirma Marinesco [26] no deben considerarse como accidentes unidos a tal o cual causa, porque se trata de fenómenos inherentes a la materia viva.

Teoría químico coloidal de la vejez.

La superficie y el volumen de la micela, están relacionadas con los fenómenos de adsorción: los cristaloides, se difunden mejor en la gelatina coagulada de su disolución reciente, que en la obtenida de viejas dispersiones, y estos fenómenos, están relacionados con el grado de hidrofilia micelar, o de otro modo, con la edad del coloide. El feto humano, en su tercer mes de vida uterina, contiene el 94 por 100 de agua; en el sexto, 90,3 por 100, en el séptimo, 86, en el octavo, 83, descendiendo en el adulto, hasta el 67 por 100. Estudiando el cerebro de la rata, Donaldson encuentra una disminución progresiva de agua con la edad, al mismo tiempo que la materia orgánica aumenta de 6.2 a 17,3 por 100.

Marinesco, expone el mecanismo químico-coloidal de la vejez, como consecuencia de la deshidratación progresiva de la célula, que origina un aumento de viscosidad, que refrena la velocidad de difusión, y del que se deduce, un transtorno en el metabolismo celular, que sufre una perturbación de cristaloides; las materias necesarias para los cambios de nutrición, penetran y se eliminan más fácilmente en las células jóvenes, menos viscosas, que en las células viejas de viscosidad creciente; la actividad de los fermentos que tambien está relacionada con la viscosidad del medio, disminuye y de todo ello resulta una diferencia, de origen exclusivamente físico-químico, que determina la mayor o menor vitalidad en relación con la edad del sistema coloidal vivo.

Las variaciones de hidrofilia, progresivamente descendentes de los coloides celulares, que producen una disminución de superficie relativamente mayor, que la disminución de masa que simultáneamente sufren, determinan una variación en la energía de superficie del coloide, de la que es consecuencia la velocidad de algunos fenómenos vitales.

Actividad bioquímica de la materia viva.

La actividad bioquímica de los coloides que forman la materia viva, tiene relaciones de analogía, con la actividad química y bioquímica de las disoluciones coloidales y el estudio ultrami-

croscópico de las disoluciones coloidales y de los plasmas vivos, facilita la interpretación de esas diferencias, por modificaciones en la actividad del movimiento browniano micelar, según ya por otra serie de consideraciones hemos deducido, al estudiar en el Capítulo V, el movimiento browniano en la materia viva.

La carga eléctrica de las micelas.

En todo sistema coloidal, la fase dispersa posee una carga eléctrica, de la que es consecuencia una pequeña conductibilidad eléctrica que presentan los coloides, por la cual, puede estudiarse en estos sistemas, fenómenos de transporte eléctrico.

Coloides positivos y negativos.

Cuando introduciendo dos electrodos en una solución coloidal, se crea un campo eléctrico, las micelas se desplazan siguiendo el sentido de la corriente, o bien se mueven en sentido contrario, lo cual origina una clasificación de coloides en positivos o negativos respectivamente: este fenómeno que constituye un verdadero transporte eléctrico, fué observado por primera vez por Picton y Linder[27] y es una propiedad general de los coloides. Macroscópicamente puede observarse, cargando con una solución coloidal un voltámetro, cuyos electrodos no se encuentren muy distantes y al pasar la corriente se observará que en uno de los electrodos (o en los dos) aparecerá una masa de coágulo producida por la acumulación en contacto con el electrodo de las micelas, que al establecer el campo eléctrico, se orientaron en su movimiento hacia el electrodo.

Velocidad de transporte.

Con ayuda del ultramicroscopio, puede verse este fenómeno, de transporte eléctrico, y así lo observaron Cotton y Mouton aplicando[11] métodos ultramicroscópicos, a los que haremos referencia cuando expongamos los métodos que para observar estos fenómenos practicamos en nuestro Laboratorio. La velocidad de transporte de las micelas, es del mismo orden de magnitud que la de los iones de los electrolitos (Arrhenius)[14]. Para una caída de potencial de un voltio por centímetro, la velocidad de las partículas suspendidas varía entre 10×10^{-5} y 40×10^{-5} para diferentes cuerpos a 18° de temperatura; la velocidad de los iones es de 36×10^{-5} por segundo para el $Li^{\cdot}$ y de 66×10^{-5} centímetro segundo para el $K^{\cdot}$. Resulta pues, que las micelas en lo que refiere a movilidad en un campo eléctrico, se asemejan a la de las partículas de los llamados cristaloides, dispersas en una disolución iónica.

Los trabajos de Whitney y Blak[28], deducen analógamente, que la velocidad de transporte de las partículas coloidales, es sensiblemente la misma que la de los iones monovalentes.

Es un hecho que la experiencia demuestra en todos los casos, que las micelas dispersas en su medio de dispersión, se encuentran electrizadas y como según ya hemos estudiado, estas partículas dispersas se mueven sin cesar en el líquido que las contiene, aparece a primera vista como causa de esta electrización, el frotamiento de las micelas con el medio líquido en que se encuentran, pero esta no es una explicación suficiente, ni la carga corresponde a esa causa mecánica.

Los fenómenos de ósmosis eléctrica, estudiados cuantitativamente por Wiedemann, demuestran, que si una disolución acuosa se divide en dos regiones por un tabique poroso, al establecer una diferencia de potencial en estas dos partes, el líquido filtra a través del diafragma, con una velocidad, que es función de los factores de la corriente. Quincke estudiando el fenómeno en tubos capilares demuestra, que el transporte por ósmosis eléctrica, es proporcional al cuadrado del diámetro del tubo, y establece la semejanza entre estos fenómenos y la electrización por contacto, deduciendo que el contacto entre dos cuerpos, desarrolla cargas eléctricas que forman sobre las dos paredes, dos capas adherentes de signos contrarios: cuando uno de los dos cuerpos en contacto es sólido y líquido el otro, la capa eléctrica situada al lado de la pared sólida, se inmoviliza por su adherencia a esta pared, mientras que en el líquido, una parte participa de la fluidez del medio y es susceptible de desplazarse, bajo la influencia de una fuerza tangencial.

Origen de la carga de las micelas.

Estas ideas dan una explicación sencilla a la carga de las micelas dispersas en un sistema coloidal, carga desarrollada en la superficie de contacto, entre el medio de dispersión y las partículas. En el sistema coloidal, cada partícula presenta en su superficie una capa eléctrica adherente, cuyo origen iónico, nos indica los fenómenos de adsorción y próxima a esta capa, se encuentra otra de signo contrario, formando parte integrante del medio de dispersión. Este sistema, formado por la partícula material dispersa y dos cargas eléctricas que mutuamente se neutralizan, es el concepto más exacto de la micela.

Por la acción de un campo eléctrico, parte de la capa externa se desprende y se orienta hacia el electrodo de signo contrario, al mismo tiempo que la capa adherente interna, que ya no se encuentra neutralizada, origina el que se mueva la micela hacia el otro electrodo.

Experimentalmente, J. Perrin [20] ha llegado a establecer las condiciones de la electrización por contacto, deduciendo consecuencias muy importantes. Los líquidos de gran poder inductor específico (agua, etanol, acetona, etc.), son los únicos que electrizan fuertemente por contacto: por el contrario, la ósmosis eléctrica no se pone de manifiesto, en líquidos muy viscosos, como la glicerina, por ejemplo. Para determinar el sentido de la ósmosis eléctrica, es suficiente la presencia de pequeñas cantidades de ácido o de álcali y si se opera en ausencia de radicales polivalentes, toda substancia no metálica, es positiva en líquido ácido y negativa en líquido alcalino, resultando elevado el potencial de una pared cualquiera, por adición al líquido de un ácido monovalente, ejerciendo efecto contrario, la adición de una base, siendo en cada caso esta variación de potencial, debida a la concentración de iones $H^{\cdot}$ u OH'. La adición de iones polivalentes al líquido, disminuye la electrización de la pared y aún llega a cambiar el signo, si la carga del ión añadido es de signo contrario al de la pared.

Ósmosis eléctrica.

Citados estos estudios sobre ósmosis eléctrica, principalmente los trabajos de Perrin, se deduce la importancia que tiene su aplicación para conocer el origen de la carga de las micelas: pueden considerarse unos y otros fenómenos, análogos en esencia, aunque en los sistemas coloidales, se trata de pequeñísimas superficies, pero la electrización de las micelas, es una manifestación de los fenómenos de electrización por contacto. Si se supone, que la substancia que forma la pared de un tubo en el que estudiamos la ósmosis eléctrica, se reduce a polvo, estas partículas, se desplazan en sentido contrario al líquido, como demuestra la experiencia.

Las consecuencias de los trabajos de Perrin, establecen que si suponemos un medio de dispersión absolutamente exento de iones y partículas de grado coloidal dispersas, de tal condición, que resultaran absolutamente insolubles e inatacables por el

líquido, las partículas no poseerían carga eléctrica: pero estas condiciones teóricas, nunca se realizan en la práctica.

Acción de los iones.

Los iones en presencia, unidos a las micelas por fenómenos de adsorción, producen para los complejos iónico coloidales que así se forman, cargas eléctricas que aparecen en los coloides y que originan el fenómeno del transporte eléctrico, mientras que los iones de carga contraria, no adsorbidos por la micela, neutralizan el conjunto, resultando la explicación del fenómeno puramente electrostática.

Figura 46

Estudio macroscópico del transporte eléctrico en los coloides.

Fácilmente, se pone en evidencia según ya hemos indicado, el fenómeno del transporte eléctrico por los coloides, llenando con el dispersoide un tubo en *U* e introduciendo en sus extremos, unos electrodos de platino por los que se hace llegar la corriente eléctrica; pero lo más importante de este método consiste, en que operando con los detalles de técnica convenientes, puede utilizarse para determinar velocidades de transporte: así lo hicieron Nernst, Whetam y Hardy, utilizando un tubo en *U* análogo al representado en la fig. 46, que es el empleado por Burton[9]. Cada una de las ramas, tiene 12 cm. de long. y se graduan en milímetros, en toda su longitud.

Se comienza la experiencia, introduciendo en el tubo un poco de agua destilada y después se hace penetrar muy despacio el coloide por la parte inferior, de tal modo, que se mantenga una superficie de separación entre estos dos líquidos: los electrodos recubiertos de negro de platino, deben quedar completamente sumergidos en el agua, pero sin que a ellos llegue el coloide: se cierra el circuito y la superficie de separación de los dos líquidos, sube en una de las ramas, mientras tanto que baja en la ôtra: al cabo de diez minutos, se cambia el sentido de la corriente, y después de veinte minutos, se da la experiencia por terminada, deduciendo la velocidad que se busca, por la semisuma de los desplazamientos anotados en las dos ramas.

Todos estos métodos macroscópicos, que solo citamos para dar cuenta de métodos experimentales en uso, para estudio de

Observaciones ultramicroscópicas.

transporte eléctrico en los coloides, pueden ser muy ventajosamente sustituídos, por métodos ultramicroscópicos, susceptibles de mayor exactitud, por los cuales, nos damos cuenta de la realidad del fenómeno y pueden servir además, para hacer mediciones de velocidad de transporte.

Método de Cotton y Mouton, sus defectos.

Entre las investigaciones hechas a este fin, merecen especial mención, pues son casi las únicas, y desde luego las más importantes que conocemos, las de Cotton y Mouton[11] que como método de trabajo, utilizan para hacer las preparaciones, un porta objetos sobre el que colocan unas delgadas láminas de platino, cuyos extremos se encuentran a una distancia mucho menor (mitad o un tercio), que el lado del cubre objetos. Operando así las burbujas gaseosas que siempre se producen al paso de la corriente, quedan retenidas en la preparación entre el cubre y el porta objetos y ello es causa: 1.°, de que el campo ultramicroscópico adquiera progresivamente tal luminosidad que al cabo de muy poco tiempo, la visión ultramicroscópica desaparece; 2.°, de que el transporte eléctrico sea profundamente perturbado, porque en las inmediaciones de los electrodos se forman torbellinos, tanto más violentos, cuanto mayor es el voltaje de la corriente con que se opera.

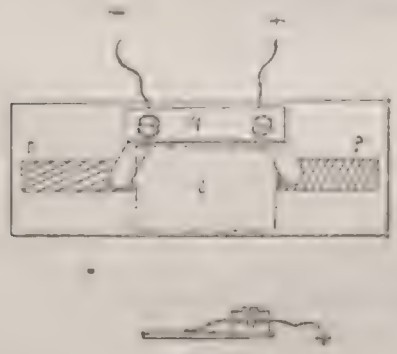


Figura 47

El medio de trabajo ideado y puesto en práctica por Cotton y Mouton nos parece, por las razones dichas, muy poco recomendable y poco seguros los resultados que con él se obtengan.

En nuestro Laboratorio operamos de modo distinto, y creemos haber corregido los defectos del método Cotton y Mouton.

Método de observación que empleamos.

El porta objetos en el que montamos la preparación, es un porta objetos de mayor tamaño del corriente y calibrado, para observaciones con el condensador cardioide: lleva pegada con lacre, una pieza de ebonita *M*, a la que se sujetan dos muelles que fijan dos pequeñas láminas de platino, *P P*, separadas a distancia un poco mayor que el lado del cubre objetos, *C*. Hecha

la preparación, llega la corriente por los hilos sujetos a la pieza *M*, el líquido toca las láminas *P P* de platino y el transporte puede observarse muy bien, porque los gases producidos, están siempre fuera de la preparación. La fig. 47, representa este dispositivo, y en la parte inferior de la figura, aparece un corte vertical para mayor claridad. Utilizando este medio de trabajo ha realizado en nuestro Laboratorio el Dr. Maynar sus estudios sobre hemoconias de la sangre y el Dr. Armisén, los ya citados trabajos sobre transporte eléctrico.

El transporte eléctrico en hidrosoles de plata.

Puesto en observación un coloide cualquiera, sea por ejemplo el hidrosol de platino Bredig, al pasar la corriente, en las micelas se trastorna el movimiento browniano, y se las ve dirigirse hacia el polo negativo, casi en su totalidad, pues algunas, al encontrarse en la proximidad de este electrodo, retroceden con dirección contraria. Así ocurren las cosas, cuando la preparación es suficientemente delgada; pero aun en estas condiciones, si en lugar de platino observamos hidrosol de plata Bredig, desde el primer momento que la corriente circula, las micelas se orientan en las dos direcciones de los polos opuestos, pero cambiando de dirección casi todas al llegar a las proximidades del negativo, de tal modo, que cuando el fenómeno termina, casi todas las micelas se han acumulado en el polo positivo.

Estas observaciones sugieren la idea de investigar si son o no son idénticas químicamente, todas las micelas del hidrosol Bredig de plata, y si tienen una composición química análoga a las de platino o el oro, y en nuestro Laboratorio, se han iniciado estas investigaciones que el Dr. Armisén realiza.

Naturaleza de las micelas del hidrosol de plata Bredig.

El coágulo que se forma cuando por un hidrosol de plata Bredig pasa una corriente eléctrica, se *peptiza* cuando se trata por amoníaco, presentando por esta acción y por su estructura observada al ultramicroscopio, grandes semejanzas con el precipitado de hidróxido de plata que se forma al tratar la disolución de nitrato de plata por amoníaco y que como el coágulo a que nos referimos es soluble en este reactivo. Por otra parte, cuando se obtiene la plata coloidal Bredig, se producen gases (V. pág. 78) que proceden indudablemente de la descomposición del agua por la chispa eléctrica; estos gases, deben ser mezcla detonante, pero hecho su análisis resulta que estan formados casi exclusi-

vamente por hidrógeno, luego el oxígeno ha sido adsorbido, indudablemente por la micela de plata, que resultará así formada por óxido argéntico, o mejor, por un compuesto de adsorción de plata y oxígeno. Esta consecuencia se confirma, estudiando la electrolisis de un dispersoide de plata Bredig, y recogiendo los gases resultantes.

Si en lugar de operar con plata, se opera con platino o con oro, metales muchísimo menos oxidables, apenas se producen gases en su pulverización eléctrica, porque los que por la acción de la chispa sobre el agua, se ponen en libertad, se recombinan inmediatamente.

Por lo que llevamos dicho, se comprenderá la importancia de estas investigaciones, que no detallamos más, porque el Doctor Armisén las está publicando, con todo género de detalles prácticos.

Dispersoides albuminoideos.

Si se pone en observación un dispersoide albuminoideo, se observa, como en los casos anteriores, la orientación de las micelas y el transporte eléctrico, pero no todas las micelas van hacia el mismo polo. En el caso de un hidrosol de albúmina vegetal, operando con una corriente de 30 voltios, pasa por la preparación 0,001 de amperio; la mayoría de las micelas caminan hacia el polo negativo, donde forman grandes coágulos, y las menos, se orientan hacia el polo positivo, en cuyas próximidades forman pequeños coágulos.

Todas las observaciones a que nos hemos referido, son hechas sobre preparaciones delgadas, pues si fueran gruesas, el fenómeno sufre algunas variaciones, pero como el trabajo que sobre esta interesante cuestión, se realiza en nuestro Laboratorio, ha de ser publicado muy pronto, no damos aquí más detalles experimentales.

Variación del signo de la carga.

Resulta pues de un valor muy relativo, la clasificación de los coloides en positivos y negativos, según el signo de su carga eléctrica: es cierto que en cada uno predomina una de las cargas, y este hecho tiene interés, pero el signo de la carga tiene tal relatividad, que varía con la naturaleza del medio de dispersión y por la presencia de iones: así Hardy demostró, que las disoluciones de albúminas, son hidrosoles negativos en presencia de una traza de álcali, (iones OH') y positivas, en presencia de

los ácidos (iones H^{+}); los iones en presencia, no alcanzan siempre a cambiar el signo de la carga, pero siempre varían la velocidad del transporte eléctrico [31].

El jugo gástrico dializado, solamente contiene coloides positivos (Iscovesco) [30] y esto se demuestra, coagulando ovoalbúmina en el fondo de un tubo en *U* y llenando las dos ramas con pepsina clorhídrica; haciendo pasar una corriente eléctrica (0,3 a 0,6 voltios por centímetro y de 0,0004 amperio), la ovoalbúmina, solo es atacada en el lado del electrodo positivo, mientras que en el otro lado, no se ataca, porque la pepsina se aleja de la albúmina, por acumularse en el polo negativo. Por el contrario, en el jugo pancreático, dominan los coloides negativos, por lo cual, mezclando jugos gástrico y pancreático de perro, se forma un precipitado (coagulación).

La electrización de la micela y los fenómenos de asimilación.

En el complejo coloidal que constituye la parte más esencial de la materia viva, se comprende fácilmente que la electrización de las micelas, ejercerá una gran influencia, entre otros fenómenos, en los de asimilación y desasimilación: las micelas, según su carga eléctrica, se unirán con unos u otros iones o micelas y de aquí resultará quizá, que el fenómeno misterioso de la asimilación electiva, se reduce a un equilibrio de cargas eléctricas de signo contrario. Estos estudios, están apenas iniciados en Biología, y creemos deben comenzar a estudiarse, por los más sencillos sistemas coloidales, para generalizar después, si la investigación experimental autoriza a ello.

En las disoluciones coloidales de cuerpos magnéticos, se observa este mismo carácter en la fase dispersa.

Propiedades ópticas de las micelas.

En los coloides que contienen substancias ferromagnéticas, colocados en un campo magnético y atravesados por un haz de luz normal a las líneas de fuerza, se observa, que las vibraciones perpendiculares y las paralelas a las líneas de fuerza, se propagan con velocidades diferentes, es decir, que posee el sistema propiedades ópticas, análogas a las de una lámina cristalina uniáxica, de donde se deduce, que las micelas de estos coloides, son anisótropas, de propiedades análogas a los cristales, aun cuando su estructura cristalina no sea perfecta.

La existencia de estos fenómenos, ha sido demostrada por Majorana [32] operando con hidrosoles de hidróxido de hierro; la

birrefrigencia, ha demostrado este investigador que es frecuentemente acompañada de dicroismo, y ha buscado de qué modo varía la birrefringencia con la naturaleza del coloide y con la intensidad del campo magnético.

Orientación de micelas en un campo magnético.

De los trabajos de Majorana dedujo Schmauss[33], que las partículas ultramicroscópicas de los sistemas coloidales, se orientan por la acción del campo magnético y apoya esta hipótesis, el hecho de que si se añade hidrosol de gelatina a un coloide activo y se deja coagular por enfriamiento la mezcla, en el campo del electroimán, la masa así obtenida, sigue birrefringente fuera del campo magnético. Algunos de estos coloides activos (por ejemplo, hidróxido férrico), sometidos a la evaporación espontánea, sobre un porta objetos, en un campo magnético, conservan las propiedades de una lámina cristalina.

Fenómeno de Kerr.

Sería interesante estudiar la acción que un campo magnético poderoso, ejerce sobre los sistemas coloidales. Actualmente, la birrefringencia magnética y electrica (fenómeno de Kerr), se interpreta, admitiendo que las moléculas, como los cristales, tienden a orientarse cuando se las coloca en un campo magnético o eléctrico. MM. Cotton y Mouton, han estudiado la birrefringencia magnética de los líquidos puros, deduciendo que las moléculas, no tienen las mismas propiedades en todas las direcciones, es decir, que son *anisótropas*, carácter, que aplicado el método a los sistemas coloidales, conduciría seguramente a conclusiones análogas y se orientarían las micelas bajo la acción del campo, como lo hacen los cristales y las moléculas. Para estos trabajos, sería preciso utilizar campos magnéticos muy intensos[34], pues por ser las micelas de mayor diámetro que las moléculas, la agitación térmica tiene menor importancia.

Los seres vivos, viven en un campo magnético, el terrestre, y la acción que sobre ellos ejerzan campos más intensos, se deducirá del estudio de fenómenos análogos en los sistemas coloidales. Lord Kelvin, Du Bois y otros, han intentado estudiar la acción de los campos magnéticos sobre los seres vivos, sin llegar a conclusiones importantes. M. Bohn en el Laboratorio de Curie, ha llegado a demostrar que la acción existe, pero que no se manifiesta, más que cuando se prolonga por algún tiempo.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPITULO

1. Le Dantec, Conferencia sobre *Las dos tendencias biológicas* ante la Soc. des amis de l'Université. París, 28 Enero 1909.

2. A. Pictet, *La structure moleculaire et la vie*. Discurso inaugural de la 97ª sesión de la Soc. hel. des Sciences natur. Géneve, 12-15 Septiembre 1915.

3. Carracido, *El estado coloide en la materia viva*. Lección inaugural del curso de Química biológica. 1912-13. «Monitor de la Farmacia». Madrid, 5 Enero 1913.

4. Siedentopf y Zsigmondy, *Annalen der Physik*. 1903.

5. R. Gans, *Estudio de la forma de las partículas ultramicroscópicas*. Universidad Nacional de La Plata. Contribución al estudio de las Ciencias físicas y matemáticas. Vol. I, entrega 4. La Plata, Agosto 1915.

6. Henriot, *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences de Paris*, t. CXXXVIII, p. 112. 1904.

7. Cholodny, *Koll. Zeit.* 2-19-1907.

8. Malfitano, *Soc. Chim. Phys. de Paris*. 11 Marzo 1914.

9. F. Burton, *The phisical properties of colloidal solutions*. Londón, 1916.

10. M. Martínez Risco, *Revista del Ateneo Científico Escolar de Zaragoza*, 11 Abril 1916.

11. Cotton y Mouton, *Les ultramicroscopes et les objets ultramicroscopiques*. París, 1906.

12. W. Nernst, *Traité de Chimie generale*. Traduc. par Corvisy, t. I, pág. 497. París, 1911.

13. Malfitano, *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences de Paris*, t. CXLII, p. 1277, año 1906.

14. Sv. Arrhenius, *Les suspensions et les phenomenes d'adsortion*. Conferencia en la Sorbonne. París, 9 Marzo 1911.

15. Freundlich, *Kapillar Chemie*. Leipzig, 1909.

16. Gengou, *Archives internacionales de Physiologie*, t. VII, páginas 1 y 105. 1908-1909.

17. G. C. Schmidt, *Zeitschrift f. physik Chem.* t. LXXIV, página 689. 1910.

18. Biltz, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 1904.

19. Carracido, *La micela en Bioquímica*. Conferencia ante la Asociación española para el Progreso de las Ciencias. Congreso de Madrid, 1913.

20. J. M. van Bemmelen, *Die Adsortion*. Dresden, 1910.

21. Zlobicki, *Bull. Acad. Sciences de Cracovie*, p. 488, 1906.

22. Iscovesco, *Bull. Soc. biolog.* 1910 y 1911.

23. M. H. Fischer, *Das ödem Eine experimentelle und theoretische Untersuchung der Physiologie und Pathologie der Wasserbindung in Organismen*. Dresden, 1910.

24. Metchnikoff, *Ensayos sobre la naturaleza humana*, 1903.

25. Metchnikoff, *Microbes lactiques et longevité*. «La Revue». París, 15 Enero 1911.

26. Marinesco, *Revue Scientifique*. París 30 Mayo 1914.

27. Linder y Picton, *Journ. of Chem. Society*, p. 148, 1892.

28. Whitney y Blake, *Journ. Amer. Chem. Soc.*, t. XXVI, 1904.

29. Perrin, *Journal de chimie physique*, t. II, p. 601, 1904 y t. III, p. 110, 1905.

30. Iscovesco, *Soc. Biolog.* p. 783, 1906.

31. Mayer y Salles, *Comptes Rendus de l'Acad. des S. de Paris*, t. CXLVI, p. 826.

32. Majorana, *Rendiconti Accad. Lincei*, t. XI, p. 374, 531 y 90, 1902.

33. Schmauss, *Drude's Annalen*, t. XII, p. 186, 1903.

34. A. Cotton, *Revue Scientifique*. París, 25 Abril 1914.

CAPÍTULO VII

ESTUDIO DE LA COAGULACIÓN

Por causas muy diversas, que aisladamente iremos estudiando, los sistemas coloidales pierden su estado de equilibrio y la fase sólida se separa del medio de dispersión, lo que constituye la coagulación del sistema. Interpretando el fenómeno según este concepto, la coagulación en los coloides, representa la precipitación en los solutoides iónicos o moleculares, cuando por variados medios, se separan del disolvente las moléculas o iones dispersos y aun guarda relaciones de semejanza, con la separación que con mayor facilidad se efectúa, de las gruesas partículas dispersas en las emulsiones o en las suspensiones, cuando separados de su medio de dispersión, se aglomeran formando cremas o depósitos, que se acumulan según su densidad, en la superficie o en el fondo del líquido.

En qué consiste el fenómeno.

Todos estos fenómenos, son fundamentalmente análogos, presentando variaciones, que no dependen más que de la distinta estabilidad de los diferentes sistemas considerados: es claro que cuanto más estable sea el sistema (caso de las disoluciones verdaderas), con menos facilidad se separará la fase dispersa del medio de dispersión, pero ya dentro del caso general, las variaciones son de más a menos.

Conviene fijar con toda esta amplitud el concepto de la coagulación, porque actualmente, no solo en el lenguaje corriente, sino en obras muy recientes, se establecen diferencias entre la coagulación y la precipitación de los coloides[1] tratando de diferenciar fenómenos esencialmente idénticos y sin otra diferencia, que el carácter de reversibilidad que hemos de ver como relativo. Otras veces, se establecen dentro de la coagulación y como

Concepto general de la coagulación.

exclusivamente resultado de la electrización de las micelas, la carga eléctrica de éstas, es por lo menos, uno de los factores más importantes.

Las acciones que puedan producir la coagulación de los coloides, serán evidentemente, aquéllas que lleven consigo, una variación en los factores de estabilidad de estos sistemas: en concepto de Henri, estos factores son: tensión superficial, carga eléctrica y viscosidad, luego las modificaciones de éstos, podrán producir según el sentido de la variación, la coagulacion del coloide.

Coloides reversibles e irreversibles.

Atendiendo a la solubilidad en el agua de los precipitados obtenidos en la coagulación de los hidrosoles, W. B. Hardy clasificó los coloides en reversibles e irreversibles, denominando así respectivamente, a los que producen coágulos solubles o insolubles, en el agua. El carácter de reversibilidad, tiene algún interés en los coloides, pero no debe establecerse de un modo absoluto, sea cualquiera el medio de dispersión del coloide considerado, o el líquido en que se disuelva el coágulo producido, y así, no constituye un carácter diferencial, pues en último término, todos los coloides serán reversibles; pero tiene interés conocer cuál es cada caso, el medio de dispersión en el que pueda establecerse la reversibilidad del fenómeno (peptización). Se citan con arreglo al concepto de Hardy como tipo de coloides irreversibles, los metálicos, pero entre ellos hemos observado, por ejemplo, el caso de la plata, que es coloide reversible al agua ligeramente amoniacal: este hecho se observa muy bien, añadiendo a la preparación ultramicroscópica de coágulo de plata, en suspensión en el agua, una pequeña gota de disolución acuosa de amoníaco y observando al ultramicroscopio, se ve que cuando por difusión llega el amoníaco a estar en contacto con los trozos de coágulo, éstos se deshacen restableciéndose el sistema coloidal.

Relatividad de esta clasificación.

Establecida la clasificación de los coloides en reversibles e irreversibles, algunos autores, Pöschl entre ellos[4], marcan caracteres diferenciales entre unos y otros, estableciendo que los hidrosoles reversibles, son casi insensibles a la acción de los electrolitos y los irreversibles lo son tanto, que una pequeña cantidad de dispersoide iónico añadido, produce la coagulación:

esta es la apariencia, pero estudiada con ayuda del ultramicroscopio la acción iónica sobre el coloide en uno y otro caso, no puede establecerse este carácter diferencial[4].

Acciones iónicas.

Los iones en presencia del coloide irreversible, como del reversible, forman con las micelas compuestos de adsorción, como los coloides de determinadas células, fijan determinadas toxinas, por una forma de afinidad de este género, modificándose fundamentalmente el trabajo bioquímico de los coloides celulares, y produciéndose los transtornos fisiológicos, que son consecuencia de esta modificación. Unos y otros coloides, se modifican por las acciones iónicas más o menos intensamente, pero de estas acciones, no puede deducirse un carácter diferencial absoluto.

Los coloides reversibles, comunican su reversibilidad a los irreversibles, por ejemplo, adicionando gelatina a un sol de oro, coagula este más difícilmente, pero provocada su coagulación, el coágulo es susceptible de ser nuevamente disperso en el agua, calentando ligeramente. Esta acción, parece producida por una combinación de las partículas de oro y las de gelatina, formando micelas complejas que experimentan los cambios reversibles.

Actividad bioquímica de los coloides.

La actividad bioquímica de los sistemas coloidales, está relacionada con la cantidad de iones en presencia: los coloides metálicos inyectados, producen toda una serie de fenómenos, muy semejantes a los característicos de defensa de los organismos, siendo su acción fisiológica distinta, según la concentración iónica en presencia con que se inyectan. Las disoluciones Bredig puras, introducidas en la circulación general, producen una porción de trastornos funcionales (Iscovesco, Galeotti, Aggazotti) mientras que isotonizadas, por mezcla con una disolución de conveniente concentración en cloruro de sodio, no son precipitadas instantáneamente por el plasma sanguíneo y pueden realizar las acciones catalíticas correspondientes. Los coloides metálicos eléctricos, tienen distinta acción terapéutica que los obtenidos por medios químicos[6], siendo así que entre unos y otros, no hay más origen de diferencias, que la presencia o ausencia de iones extraños.

De estos hechos puede deducirse, que por su acción fisiológica se diferencian los coloides irreversibles, a causa de la presencia de iones, aun encontrándose éstos en tan pequeña canti-

dad, que a simple vista no se aprecia en el sistema modificación alguna apreciable. Hemos llevado a la observación ultramicroscópica, el estudio de las diferencias que existen entre unos y otros sistemas, encontrando que en el coloide eléctrico, puro, las micelas gozan de una gran libertad en su medio de dispersión, agitadas libremente por su movimiento browniano, sin manifestar tendencia a la adhesión mutua ni a las paredes del porta o cubre objetos en que esté hecha la preparación. Pero en cuanto se ponen iones en presencia, las micelas manifiestan tendencia a perder su individualidad, y se adhieren a las paredes de vidrio o entre sí, terminando por inmovilizarse y perdiendo en carácter coloidal, el sistema sobre el que se opera. Cuando hemos tratado de contar micelas en un volumen conocido de coloide, siempre hemos procedido a inmovilizarlas por este medio, obteniendo buen resultado (V. pág. 223): el contar micelas en movimiento, como hacen varios investigadores, Zsigmondy entre ellos, es muy difícil y el error muy fácil, mientras que inmovilizadas, el recuento se hace con gran facilidad.

Ampliadas estas observaciones a los coloides reversibles, para comprobar si es efectiva la poca sensibilidad que les atribuyen a las acciones iónicas, operamos con disoluciones de ovoalbúmina y de albúmina vegetal. La fig. 44, que presenta inmovilizadas las micelas de tal modo, que fué posible obtenerla con treinta segundos de exposición, corresponde a una preparación de ovoalbúmina que contiene disolución de sulfato amónico en tan pequeña cantidad, que el líquido aparece perfectamente transparente y sin embargo, como en el caso de los coloides irreversibles, las micelas se adhieren, y manifiestan tendencia á perder su individualidad.

Concluimos de estas observaciones, que los coloides sean irreversibles o sean reversibles, manifiestan una gran sensibilidad a las acciones iónicas, sin que de éstas deba deducirse una diferencia suficiente para poder establecer una clasificación, diferencia que si ha sido establecida por la observación macroscópica, el estudio ultramicroscópico, indudablemente más exacto, la rechaza, confirmando este resultado, las observaciones fisiológicas.

Coloides protectores.

El fenómeno de coagulación se retarda o se evita, por adición al sistema coloidal, de otro coloide que por producir este

efecto, recibe el nombre de *coloide protector*. Muchos coloides orgánicos, añadidos en pequeñísima cantidad a otros suspensoides, evitan su coagulación.

Al tratar de la obtención de coloides (V. pág 84), hemos citado el método denominado *schutzcoloide*, que en esencia, no consiste más que en producir un suspensoide estable, por la presencia de uno de estos coloides llamados protectores, y allí hemos citado algún ejemplo. La albúmina que se encuentra en la leche de mujer, obra como coloide protector, facilitando la digestión de la caseína: estos ejemplos dan idea de la acción de los coloides protectores; Henri deduce que son coloides estables, los que así estabilizan sistemas coloidales.

Número de oro. Con referencia al oro coloidal, Zsigmondy [8] ha hecho determinaciones cuantitativas de la acción protectora de los coloides, tomando como coloide tipo, un sol de oro que contiene de 0,0053 a 0,0058 gramos de oro por 100 y como disolución productora de coagulación, una de cloruro de sodio al 10 por 100. Denomina *número de oro*, los miligramos del estabilizador que son necesarios, para evitar que un centímetro cúbico de la disolución de cloruro de sodio, coagule (viraje al violeta), 10 centímetros cúbicos del sol de oro. Müller y Artmann [9] han realizado también algunas investigaciones en este sentido, operando con sulfuros de arsénico, de antimonio y de cadmio coloidales.

El menor número de oro, o sea el mayor poder protector, corresponde a las disoluciones de gelatina, siguiendo en orden descendente, la ovoalbúmina y la goma arábiga, las dextrinas y las lecitas, estas últimas con muy pequeño poder protector. El *humus* en las tierras, obra probablemente, estabilizando otros coloides.

Como explicación de este fenómeno, se admite que la substancia protectora, rodea a la micela del suspensoide de una capa muy delgada, que evita la adherencia mutua de las micelas, impidiendo la descarga de las partículas, o sea oponiendo un obstáculo material a la coagulación.

Para hacer con algún método el estudio de la coagulación, vamos a realizarlo, considerando no en conjunto, sino aisladamente, el fenómeno en tantos casos, como sean las causas capaces de producirlo.

COAGULACIÓN POR EL CALOR

Debemos entender la coagulación por el calor, cuando el fenómeno se produce en un sistema coloidal, en las condiciones posibles de pureza, pues si existen en cantidad apreciable iones en presencia, nos encontraremos fuera del caso, porque la acción iónica, produce o contribuye a producir, el fenómeno que atribuimos al calor.

Figura 48

El calor disocia los compuestos de adsorción

Recordemos las condiciones en que el supuesto sistema se encuentra; las partículas dispersas y el medio de dispersión, más si es el agua, caso que más nos interesa, forman por adsorción verdaderos compuestos de este género, cuya estabilidad varía de unos casos a otros. Al elevar la temperatura de un sistema coloidal, aumenta la tensión de vapor del medio de dispersión y el compuesto de adsorción formado por las micelas y su medio, se disocia.

Figura 49

Considerando el caso de los hidrosoles, esta disociación tiene lugar, aun en presencia de gran cantidad de agua, como los hidróxidos cuproso o cúprico, se deshidratan por el calor, aun en suspensión en el agua, y en este caso el cambio de color (amarillo a rojo, azul a negro) nos demuestra directamente la deshidratación. Las coagulaciones producidas por el calor, como consecuencia de un fenómeno de disociación, en que los cuerpos separados quedan en presencia, no son totales cuantitativamente, y si el sistema fuera reversible en su medio de dispersión, no se apreciaría a simple vista el fenómeno, operando a diluición conveniente.

Hechos de observación.

Estudiando la coagulación por el calor al ultramicroscopio, se deduce la diferencia esencial que existe en el mecanismo del fenómeno, comparado con el que manifiestan otras causas de coagulación. Operando con albúmina vegetal, e hirviendo el líquido, la coagulación no es visible, y al enfriar, vuelve el sistema a la misma condición de equilibrio que tenía antes: calentando la preparación ultramicroscópica, hasta 65°, y por último desecada en la estufa a 110°, se observa al ultramicroscopio, (fig. 48) una reunión de partículas, obligada por la desecación violenta, de muy distinto aspecto, a las aglomeraciones micelares que se producen en la coagulación por otras causas. Si una disolución de albúmina vegetal, muy diluída, se calienta poco a poco hasta 100°, en el porta objetos donde se montó la preparación, sin llegar a la desecación, se observa en el ultramicroscopio, que las micelas se agrupan (figura 49) algunas en línea recta, iniciándose la formación de redes que en otros casos, sobre todo cuando se opera en presencia de iones, se observan más completas.

Figura 50

Figura 51

Desecando muy lentamente y a menor temperatura (a 70°), las micelas de un hidrosol de gelatina, al 0,5 por 100, quedan adheridas a las paredes en su mayor parte y proporcionalmente muy pocas, se agrupan formando agregados, que a juzgar por la estela que les acompaña, debieron formarse rodando en pequeña masa sobre la gelatina casi desecada. La fig. 50 representa este fenómeno y con objeto de tener más campo, se hizo con tan pequeño aumento que

las micelas sueltas aparecen como puntos muy pequeños en el fondo. Si la desecación de la gelatina, fué a la temperatura ordinaria (a 10° hicimos la experiencia), las micelas quedan perfectamente aisladas y sin aglomeraciones (fig. 51).

Las coagulaciones por el calor, son incompletas

En ausencia de iones, es decir, operando con un sistema coloidal en las condiciones posibles de pureza, el calor no produce más que coagulaciones incompletas, debidas indudablemente, a la disociación de un compuesto de adsorción, formado por la fase dispersa y el medio de dispersión; ello origina la formación de aglomeraciones miceláres, productoras de turbidez en el líquido. Si el coloide posee un elevado grado de hidrofilia, (caso de los albuminoides), el efecto coagulante depende de la concentración, no manifiestándose el fenómeno, en los suspensoides diluidos.

COAGULACIÓN POR ACCIONES IÓNICAS

Mecanismo de este modo de coagulación.

Tratados los sistemas coloidales por disoluciones que sean electrolitos, o sea por disoluciones iónicas, puestos en presencia iones y micelas, se realizan acciones mutuas que pueden interpretarse del modo siguiente. La micela en presencia de determinados iones, se une a ellos, formando verdaderos compuestos de adsorción y la carga eléctrica de la micela y la correspondiente al ion, influyen eficazmente en esta formación. La micela dispersa en un líquido puro, se mueve libremente y su carga eléctrica, asegura su integridad, pero cuando se une por adsorción con los iones, por pérdida de su carga eléctrica, se aglomeran las micelas más próximas, o mejor, el compuesto de adsorción formado, dando lugar a aglomeraciones que en cuanto poseen un tamaño mayor que nuestro límite de visibilidad, enturbian el líquido, dándole aspecto de sistema heterogéneo. Cuando por incremento de masa, el peso de la aglomeración micelar vence la viscosidad del líquido, aparece el coágulo.

Para que el fenómeno se realice de una manera completa, precisa una concentración iónica suficiente. Si la cantidad de iones en presencia es muy pequeña, nada se observa macroscópicamente, pero estudiado el líquido al ultramicroscopio la ad-

Precisa una concentración iónica determinada.

herencia de las micelas a las paredes del vidrio o del cuarzo en que se haya hecho la preparacion (V. figs. 41 y 44), demuestra que se inicia el fenómeno para continuar a concentración iónica suficiente. Operando con disolución acuosa de gelatina al 0,5 por 100, y añadiendo como agente de coagulación, disolución saturada de sulfato amónico, no aparece turbidez, más que cuando se mezclan en volúmenes iguales; el precipitado formando coágulo, aparece claramente, añadiendo dosis crecientes de la disolución saturada de sulfato amónico. La fig. 52, representa el coágulo obtenido, cuando el dispersoide y la disolución iónica, se mezclan en la relación de volúmenes 1 : 1,5; si el volumen de la disolución iónica mezclada, es doble que el dispersoide, el coágulo aparece como representa la fig. 23, y si la relación de volúmenes, es respectivamente, 1 : 2,5, la fig. 54, represénta la forma del coágulo, pudiendo observarse de esta serie de coagulaciones, el tamaño creciente del coágulo producido en cada caso.

Figura 52

Se forman compuestos de adsorción.

La formación de un compuesto de adsorción en esta forma de coagulación, se evidencia por el análisis del coágulo y del medio de dispersión que resta después de la separación del gel. Cuando un hidrosol de sulfuro de arsénico, se coagula por adición de cloruro de bario, una parte del ión $Ba^{\cdot\cdot}$ es retenido por el coágulo, mientras que una parte del ion Cl', precisamente la que corresponde al $Ba^{\cdot\cdot}$ adsorbido, se encuentra en el líquido (Pic-

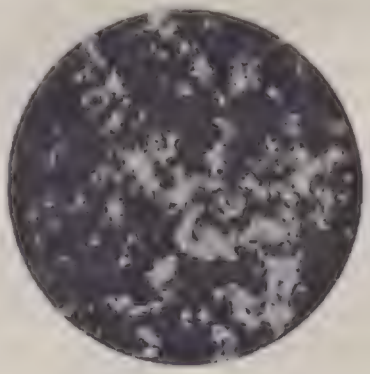


Figura 53

ton y Linder); en la coagulación de la sangre, se demuestra que la fibrina obtenida por coagulación del fibrinógeno (una de las tres proteínas del plasma sanguíneo), contiene centesimalmente mayor cantidad de materia mineral que esta proteína.

Entre los compuestos de adsorción que se forman al producirse la coagulación, pueden realizarse verdaderos fenómenos de sustitución; así, en presencia del cloruro de amonio, el coágulo de trisulfuro de arsénico que retenía bario, deja este elemento y toma a cambio del radical amonio (Linder), mientras que el hidrogel de ferrocianuro de cobre, en presencia de cloruro de bario, adsorbe bario, que sustituye al potasio que adsorbió al formarse, por la acción del ferrocianuro potásico sobre la sal cúprica, en proporciones equivalentes.

Fenómenos de sustitución.

Figura 54

Los compuestos de adsorción formados por las micelas y los iones, se dispersan en partículas eléctricamente neutras, de aquí que pierdan su individualidad, aglomerándose unas a otras, o se adhieren si están muy distantes, a las paredes de las vasijas. Jevons atribuyó la causa de las coagulaciones producidas por acciones iónicas, a la neutralización de las cargas eléctricas de las micelas, y Hardy, estudiando la coagulación de las globulinas, observó que coagulan con mucha más facilidad, cuando por modificación ácida o alcalina del medio, se encuentran las micelas a punto de cambio de signo, estado en el cual, no se mueven en un campo eléctrico y denominó *punto isoeléctrico.*

Punto isoeléctrico.

El ion, causa determinante de la coagulación, será positivo o negativo, según el signo de la carga eléctrica de la micela, por lo que, la acción coagulante de los electrolitos, depende para algunos coloides de la valencia del cation y para otros de la del anion, pudiendo darse, estudiada la cuestión bajo el aspecto cualitativo, reglas para prever la aptitud de los iones para producir la coagulación (Perrin)[10], diciendo que los ácidos, coagulan

Ley de Perrin.

fácilmente los coloides negativos (acción del ion $H^{\cdot}$), mientras que las bases (acción del ion OH'), coagulan fácilmente los coloides positivos y en casos particulares, estos agentes obran con más energía que las sales.

Ley de Hardy.

Expresando el caso con toda generalidad, Hardy[11] enunció su ley diciendo: «El radical al que pertenece el poder coagulante, es el que en el campo eléctrico, se mueve en sentido contrario del coloide».

Cuando las sales obran como agentes de coagulación, la naturaleza de los aniones Cl' SO_4'' NO_3' etc., tiene poca importancia, resultando indiferente el que se encuentre en presencia uno u otro; en cambio, dentro de cada grupo de sales, la acción coagulante aumenta con el peso atómico del cation y aumenta también con la valencia creciente del ion productor del fenómeno. Picton y Linder[12] han determinado, que sea cualquiera la naturaleza del añion, los cationes monovalentes, tienen un poder de coagulación menor que los bivalentes y estos mucho menor que los trivalentes, estableciendo que se encuentran en la relación de los números 1 : 35 : 1023 respectivamente: los cationes monovalentes potasio, sodio, litio, anilina, estricnina, toluidina, morfina, etc., tienen un poder de coagulación 35 veces menor que los bivalentes magnesio, calcio, quinina, becidina, etc., y estos mucho menor que el cation aluminio, férrico, etc.

Influencia de la valencia del ion.

Ley de variación.

Los números dados por Picton y Linder, pueden ser representados aproximadamente, según Whetham[13], por la expresión $1 : x : x^2$, que representa una ley, que se cumple más exactamente para las sales de metales de pequeño peso atómico, observándose actividad mayor para producir la coagulación, en los cationes más complejos, entre estos los orgánicos, lo que se interpreta, por la mayor facilidad que tienen para formar compuestos de adsorción con las micelas. Los coloides de la materia viva, entre los que predominan los albuminoideos, cuya carga eléctrica es negativa, formarán fácilmente en presencia de iones positivos compuestos de adsorción, propiedad de la que se deduce como consecuencia, la sensibilidad que la materia viva presenta a la acción de los iones metálicos.

En el caso de coloides positivos, cuya coagulación depende del anion, varía el poder coagulante con la valencia y también

con su masa, variando la actividad, por ejemplo, en el caso de las sales haloideas, de más a menos, en el orden iodo, bromo, cloro.

Reactivo adsorbido.

Van Bemmelen y Biltz, han determinado en varios casos cuál es la cantidad de reactivo adsorbido [14], encontrando que crece con la concentración del líquido en que se forma el gel, primero rápidamente y después lentamente, hasta que se establece un equilibrio entre el líquido y el compuesto de adsorción, de tal modo, que la formación de estos compuestos, no parece diferenciarse esencialmente de las reacciones químicas ordinarias, apareciendo como reacciones limitadas por una partición, entre el coágulo y el líquido.

Analogía entre coagulación y precipitación

El fenómeno de la coagulación por los electrolitos, puede compararse con los fenómenos de precipitación entre iones que se estudian en los solutoides, apreciándose como diferencia; que en el caso de la coagulación de coloides, no rigen leyes tan bien conocidas como las estequiométricas de la combinación. Cuando dos iones en presencia pueden dar lugar a la formación de un cuerpo insoluble en su medio de dispersión, compensan sus cargas eléctricas y se forman partículas eléctricamente neutras, que se acumulan y se depositan en forma de precipitado, como las micelas compensan su carga eléctrica con determinados iones y formando partículas eléctricamente neutras, se aglomeran y se depositan, cuando el medio no puede dispersar el compuesto de adsorción formado. Prácticamente, las partículas neutras (moléculas), formadas por los iones, se dispersan en su medio, hasta cierto límite, que representamos por el concepto de coeficiente de solubilidad y así los compuestos de adsorción formados por iones y micelas, se dispersan parcialmente, hasta rebasar un límite de poder de dispersión del medio que puede equipararse, con el concepto cinético de la solubilidad: el que diferentes coloides necesiten para coagularse, distintas concentraciones iónicas, puede interpretarse según estas ideas.

Figura 55

Estructura del coágulo operando en frío.

Cuando las coagulaciones se verifican en frío, a la temperatura ordinaria, los coágulos presentan, observados al ultramicroscopio, formas de aglomeraciones micelares entre las cuales, para el caso de coloides albuminoideos, que particularmente hemos estudiado, no hemos apreciado diferencias estructurales. La fig. 55 representa coágulo de ovoglobulina producido por el sulfato amónico, en disolución, y la fig. 56, es un coágulo de ovoalbúmina, que se formó por adición de sulfato amónico cristalizado. Esta misma ovoalbúmina, coagulada por adición de soluciones de ácido acético y de cloruro de sodio, muestra la forma de coágulo como representa la figura 57, y en el líquido, no se ve micela alguna dispersa, siendo este un caso en que el ultramicroscopio, demuestra la coagulación total, por lo cual debe ser el modo de coagulación más recomendable, cuando se trate de determinaciones cuantitativas.

Figura 56

Estructuras operando en caliente.

Si las coagulaciones se verifican en caliente, colocando en la estufa la disolución iónica y el coloide, y mezclándolos cuando la temperatura alcanza 70°, dejando después la mezcla en la estufa y enfriando muy lentamente, la forma del coágulo varía esencialmente con relación a las estructuras anteriores, y con la naturaleza del coloide. Dispersiones acuosas de gelatina al 0,5 por 100, coaguladas en estas condiciones por disolución saturada de sulfato amónico, operando en iguales condiciones de concentración iónica que la correspondiente a las figs. 53

Figura 57

y 54, aparecen respectivamente, como se representa en las figuras 58 y 59, cuyas estructuras son radicalmente distintas, apareciendo unos gránulos que toman varios colorantes de los empleados en micrografía, y sobre los cuales no hemos realizado más estudio, aunque es fenómeno que interesa estudiar, por las formas, que operando en estas condiciones toma la gelatina cuando coagula.

Figura 58

Operando con otros albuminoides, hemos repetido estas experiencias. La coagulación de la ovoglobulina con la disolución saturada de sulfato amónico (mezcla de volúmenes iguales), en caliente, a 70° produce coágulo, no muy distinto del observado en la coagulación, en frío.

Cristalización del coloide.

La coagulación por acciones iónicas, puede realizarse también, de modo que el albuminoide resulte cristalizado. Con ovoalbúmina, operamos del modo siguiente: separada por precipitación la ovoglobulina de la albúmina de huevo, añadimos al líquido ácido acético al 10 por 100 muy lentamente, hasta que el precipitado obtenido, no se redisuelve por agitación, llegando a este punto, lo más axactamente posible: se añade ahora 0,1 c. c. de solución ácida por cada 10 c. c. de líquido, y se produce lentamente una coagulación que al día siguiente se observa al microscopio, formada por una aglomeración cristalina.

Figura 59

La cristalización de un cuerpo, se perturba por la presencia de sistemas coloidales: este hecho debe ser la causa de la difi-

Perturbación en la cristalización por la presencia de coloides.

cultad que realmente existe, para cristalizar cuerpos que sólo se dispersan formando en el agua dispersoides o sistemas coloidales, o mejor, para cristalizar en su medio de dispersión, cuerpos en estado coloide, cuando se opera en presencia de una gran concentración coloidal.

Figura 60

Estudiando Leduc, con ayuda del microscopio [15], campos de cristalización, describe el mecanismo de la formación de un cristal, a partir de un núcleo cristalino, y cita algunas experiencias, para demostrar la perturbación que en la cristalización de un cuerpo, produce la presencia de los coloides.

Hechos de observación.

Hemos realizado por nuestra cuenta varias experiencias, dirigidas a la observación de estas perturbaciones, variando la concentración del cuerpo coloidal en presencia y de ellas hemos podido deducir, una interpretación racional de las causas, por las cuales en la coagulación eléctrica, se obtienen a concentraciones determinadas formas cristalinas, así como que la condición de extrema diluición, es la más favorable para el tránsito del estado coloide al cristalino.

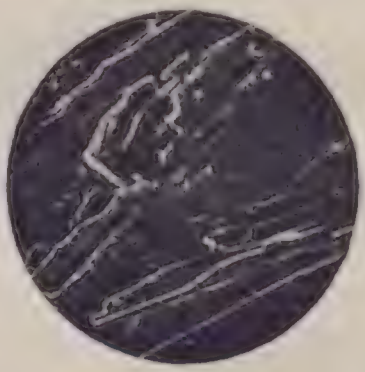


Figura 61

Operamos en un caso con disolución saturada de sulfato magnésico, a la que añadimos seis volúmenes de agua; evaporada a la temperatura ordinaria una gota de esta disolución sobre un porta objetos, el sulfato magnésico cristaliza, y observada esta cristalización al microscopio, presenta un campo, como el que representa la fig. 60, en el que se observan bien, las agujas prismáticas en que esta sal

cristaliza. Diluyendo con cuatro volúmenes de disolucion coloidal de plata Bredig, un volumen de la disolución saturada de sulfato magnésico, y abandonando una gota de esta mezcla a la evaporación espontánea sobre una lámina porta objeto, observada después al ultramicroscòpio, los cristales de sulfato magnésico aparecen profundamente deformados, (fig. 61), destacando en el campo los bordes de cristal, por las líneas blancas que aparecen en la fotografía. Aumentando la concentración coloidal, la perturbación de la cristalización es más intensa, llegando a producirse formas como la representada en la fig. 62, cuando a una gota de disolución saturada de sulfato magnésico, se añaden 10 gotas de disolución acuosa de gelatina, al 1 por 100 y se observa al microscopio.

Figura 62

Con la plata coloidal Bredig, realizamos experiencias dirigidas a observar, cómo la presencia de una sal, actúa sobre las partículas de grado coloidal de un sistema, cuando por evaporación espontánea se separan de su medio de dispersión. Una disolución coloidal de plata Bredig, prácticamente exenta de iones, evaporada sobre un porta objetos, muestra el residuo unas aglomeraciones micelares mas o menos voluminosas, distribuídas irregularmente. Pero si a una gota de disolución saturada de sulfato amónico, añadimos respectivamente, 4, 6 ó 10 gotas de igual volumen que la de la sal, de la misma plata coloidal, después de la evaporación espontánea, el residuo seco, presenta

Figura 63

los cristales de sulfato amónico alterados, y las micelas de plata, agrupadas, sin aglomerarse irregularmente, formando arborescencias más o menos complicadas, según la concentración del coloide en presencia. Las figuras 63, 64 y 65, representan aspectos del campo microscópico, en cada uno de los casos que hemos considerado.

Figura 64

En estos depósitos micelares, interesa observar, que las micelas no resultan unidas, sino aisladas, por no haber perdido en estas condiciones su individualidad; este detalle no se aprecia bien en las fotografías adjuntas, pero destaca en las diapositivas correspondientes, proyectadas, en las cuales, por la gran amplificación a que se observan, se manifiesta claramente este carácter: las formas arborescentes, parten siempre de los cristales, como si formaran un verdadero crecimiento osmótico.

Figura 65

Para terminar de documentar este asunto, añadiremos las fotografías núms. 66, 67 y 68, que representan cristalizaciones de sulfato amónico, alteradas por la presencia de dispersoides acuosos de gelatina en dosis crecientes.

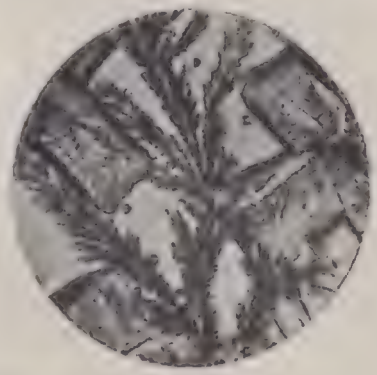


Figura 66

Figura 67

Figura 68

Figura 69

Formas que adopta la fase dispersa separada.

Para estudiar la separación de la fase dispersa de su medio de dispersión de un sistema coloidal, investigando sobre las formas que la materia separada adopta, tienen interés las observaciones que dejamos anotadas, pues demuestran la influencia de los solutoides en presencia y la intervención, cuando se opera en condiciones de que pueda actuar, de la fuerza de cristalización. Bajo el punto de vista de la morfogénesis, estos trabajos iniciados por Leduc, tienen interés, pues en la materia viva coloides y cristaloides se encuentran en presencia y son estos complejos, los que forman los tejidos. Consideradas estas acciones en conjunto, la fuerza de cristalización debe influenciar la morfología de los seres vivos. De los estudios de Lehemann [16], sobre los cristales líquidos, se deducen algunas analogías de forma entre estos cristales y los seres vivos.

Formas de precipitados en presencia de albuminoides.

Cuando en el seno de un coloide se provoca una precipitación iónica, los electrolitos que la producen, coagulan parcialmente el coloide y en el precipitado obtenido, se observan al ultramicroscopio estructuras distintas, según la

distinta naturaleza del coloide. Sirvan como ejemplo las observaciones siguientes: Una disolución de sulfato cúprico, tratada por hidróxido sódico, forma un precipitado azul de hidróxido cúprico, cuya estructura, observada al ultramicroscopio, está representada en la fig. 69: por otra parte, una dispersión albuminoidea, tratada por sulfato cúprico, coagula, formando coágulos como el que la figura 70 representa. Produciendo con diferentes albuminoides la reacción del biuret y procurando que la sal cúprica y el hidróxido de sodio se encuentren en exceso, para que se produzca, no solo la coloración característica, sino también un precipitado de hidróxido de cobre, que arrastra parte del coloide, observamos que si el albuminoide era hemoglobina, estudiado el precipitado al ultramicroscopio presenta en los grandes copos, la estructura de la figura 71, y en los pequeños la de la fig. 72, apareciendo todos ellos limitados por líneas muy brillantes. Si el coloide era una disolución de hemialbumosa, el coágulo (fig. 73) aparece lleno de puntos muy brillantes; la dispersión de al-

Figura 70

Figura 71

Figura 72

Figura 73

Figura 74

Figura 75

búmina vegetal, presenta la estructura que representa la fig. 74 y si se opera en presencia de peptonas de carne, aparecen copos pequeños surcados por rayas brillantes (figura 75).

La variación de las formas de los sedimentos obtenidos, con la naturaleza de la albúmina, es carácter que tiene interés, si pudiera utilizarse para diferenciar por medio del ultramicroscopio, algunas disoluciones coloidales, cuya diferenciación por otros medios, es difícil o no es posible realizar.

COAGULACIÓN POR VARIACIÓN DE MEDIO DE DISPERSIÓN

Coagulación y precipitación.

Cuando se varía el medio de dispersión de un sistema coloidal, y la nueva fase líquida, no tiene la propiedad de dispersar la fase sólida, esta se deposita formando coágulo, de modo análogo a lo que ocurre, cuando por variación de un disolvente, si el cuerpo disuelto no es soluble en el nuevo medio, se precipita; por ejemplo, las disoluciones acuosas de sulfato cálcico, en las que se preci-

pita la sal, por adición de alcohol etílico.

Un hidrosol de gelatina, tratado por alcohol etílico, cuando el líquido alcanza concentración conveniente en alcohol, la gelatina se precipita coagulando y el coágulo obtenido, presenta, observado con el ultramicroscopio, la estructura que representa la fig. 76. Para esta forma de coagulación, hemos estudiado en el caso de la gelatina, las variaciones de forma que en la estructura del coágulo se observan, operando en caliente a 70° y variando las concentraciones de alcohol.

Figura 76

Coagulación en caliente.

En varios tubos, colocamos un centímetro cúbico de hidrosol de gelatina al 1 por 100, y añadimos a uno de ellos, 1 c. c. de alcohol de 96° y dejamos enfriar la mezcla en la estufa, muy lentamente. Apareció al principio un muy ligero enturbiamiento que al día siguiente, flotando en el líquido tenía la apariencia de un crecimiento osmótico. Su estructura, observada al microscopio, tiene el aspecto que representa la fig. 77, el coágulo está formado por aglomeraciones diferenciadas de muy pequeño tamaño.

Figura 77

Figura 78

A otro tubo, añadimos

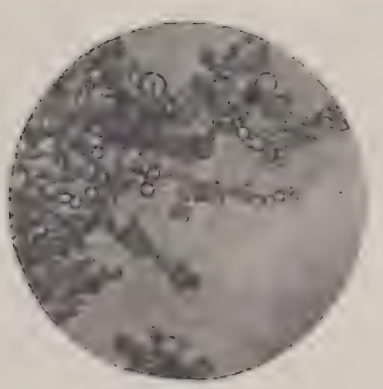


Figura 79

Figura 80

Figura 81

Formas del coágulo.

1,5 c. c. del alcohol, en las mismas condiciones de temperatura y enfriamiento lento, que en el caso anterior, obteniendo una coagulación, más abundante, en la que aparecen gránulos claramente diferenciados, fig. 78.

Coagulando en análogas condiciones, por adición de 2 c. c. de alcohol, a 1 c. c. de hidrosol de gelatina, obtuvimos una coagulación abundante, que presenta gránulos más gruesos, y adheridos unos a otros en forma muy particular, fig. 79. Por último, repetimos la experiencia añadiendo al líquido unas gotas de disolución de cloruro de sodio, para producir una cierta presión osmótica, y dejando caer muy lentamente, mediante un tubo afilado, el alcohol (2 volúmenes) que ha de producir la coagulación; la fig. 80, representa el aspecto del coágulo obtenido, en el que aparecen algunas formas amiboideas.

Presentamos estos fenómenos tal cual los hemos observado, detallando nuestro modo de operar, sin deducir las consecuencias que algunas observaciones nos han sugerido, porque para establecerlas, precisa mayor do-

cumentación experimental que la que actualmente poseemos.

Caso de cristalización del coloide.

Otro caso de coagulación por variación de medio de dispersión que hemos realizado, se refiere a la edestina, globulina que se encuentra en los cañamones y que aislamos, siguiendo el método que detalla Bertrand [17]. Este albuminoide, se dispersa en disoluciones acuosas de cloruro de sodio al 10 por 100 y al añadir al sistema dos volúmenes de agua, se separa del medio de dispersión coagulando. Si se opera en frío, la coagulación es rápida, y el coágulo tiene observado al ultramicroscopio, la estructura que representa la fig. 81; pero si se opera en caliente y con enfriamiento lento, como ya hemos indicado (V. pág. 90), la globulina se separa de su medio de dispersión, cristalizando, proceso al que ya nos hemos referido, presentando el precipitado obtenido, la estructura cristalina que representa la fig. 82.

Figura 82

En este caso de la edestina y en otros análogos, en los que la materia se dispersa hasta el grado coloidal, en presencia de disoluciones de concentración dada, la existencia de iones, origina la formación de compuestos de adsorción cuya dispersión es posible, en el líquido en que se opera y en la que intervienen eficazmente los iones dispersos. Cuando por la mayor masa de agua en presencia, los iones se eliminan de su compuesto de adsorción, la partícula coloidal se precipita, formando aglomeraciones irregulares o masas cristalinas, según las condiciones en que se opere.

COAGULACIÓN POR MEZCLA DE COLOIDES

Ya hemos indicado, que los coloides se clasifican en positivos y negativos, según el signo de su carga eléctrica: Linder y Picton, los denominan respectivamente, *catiónicos* y *aniónicos*.

Cuando se mezclan en proporciones convenientes dos coloides de signo contrario, los dos coagulan [12] no verificándose el fenómeno, si la carga eléctrica de los coloides en presencia, es del mismo signo. Sobre esta forma de coagulación han realizado varias investigaciones Niesser y Friedemann [18] y Biltz [19], que confirman su naturaleza eléctrica. Si los dos coloides se mezclan lentamente, se cumplen las leyes que Biltz estableció como reguladoras del fenómeno, de las que se deduce, que hay unas cantidades para cada caso, que constituyen un *optimum*, rebasado el cual, la precipitación no tiene lugar, pues esta solo se realiza, cuando se alcanza una concentración determinada. Las partículas en exceso son adsorbidas, resultando un todo aparentemente homogéneo, cuyas partículas tienen el signo de las adsorbidas.

Relacionamos la estabilidad de los sistemas coloidales, con la posibilidad de producirse fenómenos de coagulación, por la causa de que estamos tratando. Estudiado el transporte eléctrico con ayuda del ultramicroscopio, se observan en un mismo sistema las dos direcciones de transporte, como si en el coloide coexistieran micelas con carga eléctrica de distinto signo, y es muy posible que en los coloides, considerados como inestables, su cambio de estado que espontáneamente se produce, sea debido a una forma de coagulación de este tipo, mientras que los coloides calificados de estables, posean esta propiedad por un verdadero predominio de micelas con carga eléctrica de igual signo. Según estas ideas, el coloide protector obrará compensando cargas eléctricas de un cierto signo, evitando así que se compensen con micelas de su propio sistema y produzcan la coagulación.

Diastasas coagulantes.

Esta forma de coagulación, presenta particular interés, considerando que el protoplasma vivo, es un complejo de sistemas coloidales sobre el que actúan cuerpos, que como las diastasas, poseen también el estado coloide y en algunos casos, son coagulantes, como la que produce la coagulación de la caseina en la leche, o la del fibrinógeno de la sangre o la del plasma muscular.

Estos coagulantes, poseen el carácter diastásico por el cual, en pequeñísima cantidad, coagulan grandes cantidades del sistema, sobre el que específicamente actúan: el agente de coagula-

ción de la caseína de la leche, como el de la sangre, exigen para actuar como tales coagulantes, la presencia de una pequeña cantidad de sales de calcio, por lo cual si en la sangre o en la leche, se elimina el ion calcio por precipitación, por medio del oxalato amónico, por ejemplo, la coagulación no tiene lugar.

En los jugos vegetales, se producen fenómenos de coagulación, análogos a los citados; sea por ejemplo, jugo de cereza o de uva o de grosella, etc., que se abandonan al aire; al poco tiempo coagulan en parte, no depositándose como en el caso de la leche o de la sangre una materia albuminoidea, sino que en estos casos, lo que se deposita es un cuerpo análogo a las gomas, que se denomina pectina y a la diastasa coagulante, se le da el nombre de pectasa, y análogamente a los fermentos coagulantes que acabamos de citar, necesita la presencia de sales de calcio, para producir su acción coagulante (Bertrand y Mallevre[20]). Efecto análogo al de las sales de calcio, producen en este caso las de bario o estroncio.

Coagulinas y lisinas.

En la materia viva, los fenómenos de coagulación, así como los de carácter opuesto o sea los de dispersión, presentan la mayor importancia, pues las reacciones entre coloides, son las predominantes en los procesos vitales. El equilibrio que en todos los organismos se produce, entre estas dos acciones de carácter opuesto, se establece mediante la secreción de substancias (anticuerpos) que realizan verdaderas defensas del organismo y cuyas acciones son, según los trabajos de Nicolle[21], o coagulantes (coagulinas), o dispersantes (lisinas).

Las precipitinas y aglutininas, incluídas por Arthus, en el grupo de los encymoides, obran verificando fenómenos de coagulación entre coloides, los cuales tienen lugar sobre sistemas coloidales como las seroalbúminas, caseínas, etc., o sobre elementos figurados que pueden ser bacterias, protozoarios, glóbulos rojos, etc., pudiendo establecerse una continuidad evidente, entre la coagulación, por acciones recíprocas de dos coloides distintos y la aglutinación de los elementos figurados. Estas acciones son específicas, y algunos, Achalme entre ellos, consideran esta especifidad[22], como correlativa a la carga eléctrica de los gránulos, apareciendo como probable, que por poseer una carga eléctrica, los gránulos de los coloides y los elementos figurados,

el proceso de defensa del organismo, consistirá en la secreción de un coloide (el anticuerpo) que posee una carga inversa, especialmente adaptada en intensidad y en tensión, a la neutralización de la del elemento antígeno.

COAGULACIÓN ELÉCTRICA

Cómo puede operarse.

Denominamos así, a la coagulación producida, cuando en un sistema coloidal se establece un campo eléctrico. El fenómeno le producimos del modo siguiente: en un vaso de vidrio, colocamos el coloide y en él introducimos dos láminas de platino, que son los electrodos, entre las cuales se establece una diferencia de potencial, variable a voluntad del operador; este modo de operar, es análogo al de Picton y Linder, cuando estudiaron el transporte eléctrico en los sistemas coloidales.

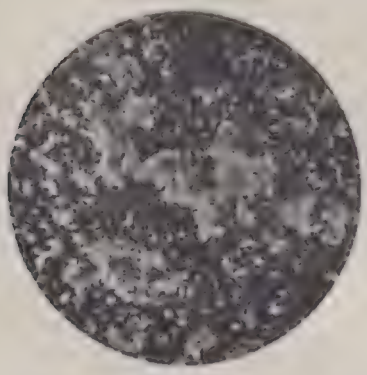


Figura 83

Verificada en esta forma la separación de la fase sólida de un coloide, en el primer momento, o sea cuando la concentración del coloide es más elevada, el coágulo obtenido es irregular; por ejemplo, la fig. 83, que es la estructura de un coágulo de plata recogido en el electrodo negativo, por coagulación eléctrica de un hidrosol de plata Bredig, y la fig. 84, que es coágulo de platino obtenido en el polo negativo, al coagular por la corriente eléctrica un hidrosol de platino Bredig bastante concentrado.

Estructura del coágulo.

Cuando la concentración del coloide es pequeña, el coágulo que se deposita, adquiere estructura cristalina, apareciendo formas tubulares como las representadas en las figs. 85 y 86, de coágulo de platino, cuya naturaleza cristalina comprobamos con el microscopio polarizante.

Estos resultados guardan relación con las observaciones de

que ya hemos dado cuenta (V. pág. 266) referente a la perturbación que en la cristalización de un cuerpo produce la presencia de un coloide: se deduce de nuestras observaciones, la influencia de la concentración coloidal, de tal modo, que la presencia de un mismo coloide, produce pequeñas o grandes perturbaciones, según su concentración. Pues bien, cuando la coagulación eléctrica comienza, operamos en presencia del coloide a una concentración máxima, a la cual la intervención de la fuerza de cristalización, no tiene acción eficaz; pero a medida que la coagulación avanza, la fase dispersa disminuye de masa y cuando el coloide tiene la pequeña concentración que para ello precisa, se forma muy lentamente un coágulo de estructura cristalina, resultando de aquí un método muy general y muy sencillo de practicar, para obtener con estructura cristalina, cuerpos dispersos en forma coloidal.

Cristalización del coloide.

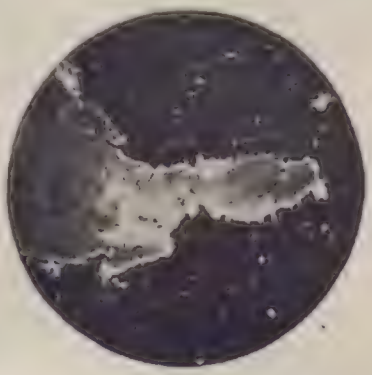


Figura 84

Caso de coloides irreversibles.

Electrolizando sistemas coloidales muy diluídos y durante algún tiempo (hasta 48 horas), se obtienen en el polo negativo formas cristalinas dendríticas como las de las figs. 87 y 12 que son de plata, o cristales como los de la figura 88, obtenidos por coagulación eléctrica de un hidrosol diluído de platino Bredig. La figura 89 representa una porción del mismo coágulo que las figuras anteriores, pero escogiendo un campo en el que las aglomeraciones sean pequeñas.

Figura 85

Operando en medios de dispersión tales que el coloide sea

perfectamente irreversible, como ocurre en el caso de los hidrosoles metálicos, estas experiencias de coagulación eléctrica, se prestan a una interpretación muy documentada del fenómeno, en que se deduce su carácter eléctrico; así como las experiencias citadas y otras que con esta orientación pueden hacerse, se prestan a estudiar el tránsito del sistema coloide al cristalino, y ello tiene un interés teórico extraordinario.

Figura 86

En el caso de los coloides reversibles, el estudio de las estructuras del coágulo obtenido por método eléctrico, está lleno de dificultades, pues en cuanto se le saca del campo eléctrico para la observación microscópica, se dispersa en su medio más o menos rápidamente. Para poder observar estas estructuras, operamos la coagulación eléctrica, en la misma preparación ultramicroscópica, utilizando el porta objetos especial que para esta clase de observaciones empleamos (V. pág. 244) y obtuvimos en el caso de dispersiones de albúmina vegetal, un pequeño coágulo en el polo positivo y grandes coágulos en el negativo. La formación de estos coágulos, indica el valor relativo que tiene la clasificación de los sistemas coloidales según el signo de su carga, pues aun cuando no con la misma intensidad, en los dos polos coagula el coloide: al estudiar el transporte eléctrico (V. pág. 246) hemos tratado ya de estos fenómenos.

Caso de reversibles.

Figura 87

Operando la coagulación eléctrica en un hidrosol de gelatina al 0,5 por 100, se depositan en el polo negativo, masas de

coágulo, como las representadas en la fig. 90, cuyo carácter cristalino no hemos podido comprobar.

Importancia del método.

Estimamos este método de coagulación, como el más sencillo y preciso para estudiar el fenómeno: es cierto que, cuando se estudia el transporte eléctrico en los coloides, se dice que el coloide aparece coagulado, pero no hemos visto que se haya dado a esta forma de coagulación la importancia que merece, hasta como método de investigación, para deducir consecuencias sobre la constitución del estado coloide y su relación de continuidad con el cristalino, asunto que presenta el mayor interés.

Figura 88

COAGULACIÓN POR LOS CUERPOS RADIACTIVOS

Primeras ideas.

V. Henri y Mayer[23], estudiando la acción de las radiaciones del radio sobre algunos sistemas coloidales, muy especialmente la acción de los rayos β sobre coloides positivos o negativos, colocados en tubos de vidrio, observaron que en los coloides positivos, se producía la coagulación al cabo de cinco días, mientras tanto que los negativos, no sufrían modificación apreciable. Estos hechos están conformes con las ideas sobre la constitución y propiedades de los coloides y con la naturaleza de las radiaciones que los cuerpos radiactivos emiten.

Radiaciones que emite el radio.

El átomo de radio en su disgregación, expulsa el átomo de helio, con una velocidad de 20.000 kilómetros por segundo, constituyendo este fenómeno las radiaciones α, visibles en el espintariscopio de Crookes; estas radiaciones, tienen un pequeño poder de penetración y son absorbidas por una capa de dos o tres centímetros de aire, los detiene una hoja de papel y su acción sobre los sistemas coloidales y por consecuencia sobre la materia viva, está todavía por estudiar. Los rayos β, constitui-

dos por partículas muy tenues, mil veces más pequeñas que las α, se mueven con una velocidad de 150.000 a 300.000 kilómetros por segundo, poseen carga eléctrica negativa y su poder de penetración, aunque variable con su velocidad, es muy grande; estas radiaciones son detenidas por una lámina de plomo de un centímetro de espesor. Los rayos γ, se parecen a los rayos X de Röentgen, pero tienen un poder de penetración todavía mayor que el de éstos, pues aun los obtenidos en tubo Crookes, con el vacío más perfecto, no son tan penetrantes como los emitidos por el radio.

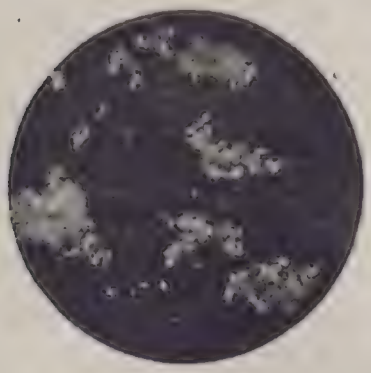


Figura 89

Los rayos β, por la carga negativa que poseen, neutralizaran la carga positiva que posea el sistema coloidal, lo que producirá aglomeraciones micelares, y en definitiva una coagulación. Jorrison y Woudstra, demostraron que los hidrosoles expuestos a la acción de las radiaciones del radio, son más sensibles para su coagulación por acciones iónicas.

Figura 90

La acción ionizante de los rayos directos α y β como la de los rayos secundarios producidos por las γ, descargan los gránulos dispersos formando coágulo; la cantidad de materia que sufre esta transformación, es proporcional a la ionización producida por la radiación absorbida.

La radiactividad sobre la materia viva.

Generalizando estas observaciones al estudio de las acciones que la radiactividad ejercerá sobre la materia viva, puede tomarse como base su constitución coloidal y rela-

cionar estas acciones, con las que sobre los sistemas coloidales más sencillos pueden estudiarse. La célula, está constituída por varios cuerpos en estado coloidal, de los que sus partículas dispersas, poseen un movimiento debido a energía cinética del medio de dispersión, pues no es más que un movimiento browniano modificado: además, estas partículas poseen su correspondiente carga eléctrica; pero si esta carga la pierden, cambian completamente los caracteres físico-químicos del sistema considerado, y así los coloides del plasma celular, pierden por la acción de algunas radiaciones del radio su carga eléctrica, se descargan los gránulos y el estado coloidal no es posible: se realiza una coagulación y por ella, el sistema es impropio para la nutricion celular, realizandose estos fenómenos con mas o menos intensidad, según sea la importancia de la radiación.

Las acciones rádicas o de los rayos X sobre la materia viva, no son de naturaleza análoga a las acciones químicas habituales[24] (Bordier), sino que sufren modificaciones, como consecuencia de fenómenos de ionización o de disociación.

Los efectos biológicos del radio, han sido estudiados por varios investigadores que operan con diferentes objetos de experimentación. Koernicke[25] deduce de sus trabajos, que sobre las semillas, las acciones rádicas aceleran la germinación, pero si actuan a dosis mayores, el vegetal no se desarrolla. En el Laboratorio de Metchnikoff, del Instituto Pasteur, se ha demostrado[26] que ciertas toxinas, como por ejemplo el virus de la rabia, pierden su virulencia sometidos a la acción del radio; Phisalix[27] demuestra por su parte que los venenos de serpientes, así como sus antídotos, se destruyen por las acciones de la radiactividad de la materia, y todo ello puede encontrar como racional explicación, una acción coagulante que por estas acciones se produce y por virtud de la cual, cambiando la constitución químico-física de los sistemas coloidales, que constituyen las toxinas activas, cambian sus propiedades.

En la vida acuática, los efectos del radio han sido estudiados por Coleridge Farr[28] experimentando sobre mamíferos y peces y confirmando el efecto destructor de estas radiaciones, que como las de los rayos X, actuan con mucha mayor intensidad sobre los tejidos jóvenes que sobre los viejos[29].

En las acciones biológicas del radio, hay acción eléctiva[30], quedando destruidas las células anormales con preferencia a las células normales: sobre cuál sea el mecanismo de esta selección, nada se conoce, pero quien tenga la fortuna de disponer de materia radiactiva para investigar sobre sus efectos biológicos, debe orientar su trabajo, estudiando en primer término el efecto sobre sistemas coloidales muy sencillos, tales como hidrosoles de diferentes compuestos orgánicos, que guarden alguna relación de constitución química con los componentes de la materia viva y después, guiado por los datos experimentales que obtenga, podrá trabajar con provecho, operando sobre el complejo sistema coloidal de la materia viva. Según puede deducirse por lo expuesto, las observaciones de la acción de la radiactividad sobre los sistemas coloidales simples, son la base de estudio por la que deberá deducirse el mecanismo de las acciones coagulantes, de las cuales se deriva, la interpretación de la destrucción de tejidos, de toxinas, etc.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. M. Arthus, *Precis de chimie physiologique*, 7.ª edic., p. 94. París, 1913.
2. Hardy, *Journ. of. Physiol.*, año, 1899, 1903, 1905.
3. J. Perrin, *Journal de Chimie physique*, años 1904-1905.
4. Pöschl, *Introduction a la Chimie colloïdale*, trad. por Heymans, París, 1912.
5. A. de Gregorio Rocasolano, *Sensibilidad de los coloides reversibles a las acciones iónicas*. «Rev. de la Acad. de Ciencias Exactas, Físico-químicas y Naturales de Zaragoza», t. I, pág. 63.
6. Bousquet y Roger, *Les metaux colloïdaux electriques en therapeutique*. París, 1910.
7. Henri, *Etat actuel de nos connaissances sur les colloides*. «Revue generale des Sciences», t. XV, año 1904.
8. Zsigmondy, *Zur Erkenntnis der Kolloïde*, pág. 66.
9. Müller y Artmann, *Öster. Chem. Ztg.*, t. VII. p. 149, 1904.
10. Perrin, *Journal de Chimie physique*, t. III, pág. 76, 1905.
11. Hardy, *Chemisches Zentral-Blatt*, p. 4, 1900.
12. Picton y Linder, *Jour. of. Chem. Soc. London*, volúmenes 61, 67, 71 y 87.

13. Whetham, *Teory of solution*, p. 396.

14. J. M. van Bemmelen, *Die Adsorption*. Dresden, 1910.

15. S. Leduc, *Theorie Physico-chimique de la vie*, p. 103. París, 1910.

16. Lehemann, *Flüssige Kristalle und die Theorie des Lebens*. Leipzig, 1906.

17. Bertrand y Thomas, *Guide pour les manipulations de Chimie biologique*, p. 231. París, 1913.

18. Niesser y Friedemann, *Münchn. Mediz. Wochenchr*, n.º 11, año 1903.

19. Biltz, *Ber. d. d. chem. Gessell.*, t. XXXVII, p. 1095, año 1904.

20. Bertrand y Mallevre, *Recherches sur la pectasa et sur la fermentation pectique*. «Bull. de la Soc. chim. de Paris», t. XIII, p. 77, año 1895.

21. Nicolle y Pozerski, *Annales del Inst. Pasteur*. Enero a Marzo, 1908.

22. Achalme, *Electronique et biologie*, p. 482. París, 1913.

23. V. Henri y Mayer, *Revue gen. des Sciences*, t. XV, 1904.

24. Bordier, *Action biochimique des radiations*. Congreso de Berlín, Marzo, 1913.

25. Koernicke, *Himmel und Herde*. Octubre, 1904.

26. *Archives d'Electricité Médicale*, 25 Septiembre 1911.

27. Phisalix, *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences*. París, 22 Febrero 1903.

28. Coleridge Farr, *Britisch medical Journal*, 14 Octubre 1911.

29. Danysz, *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences*. París, 28 Diciembre 1903.

30. Mackenzie Davidson, *Les effetes biologiques du radium et de divers Rayonnements*. Conferencia ante la «Royal Institution of Great Britain», 2 Febrero 1912.

CAPÍTULO VIII

CATALISIS BIOQUÍMICA

Las transformaciones o reacciones químicas que tienen lugar en la materia viva, se realizan en condiciones muy próximas a su estado de equilibrio y son estos procesos químicos, los que interesa conocer para estudiar el quimismo de la vida, refiriéndolos, si ello es posible, a las leyes generales de las reacciones químicas, tal como se establecen, para el estudio de las transformaciones químicas de la materia inerte.

Reacciones totales.

Entre las reacciones químicas, hay algunas, las menos, en las que los cuerpos en presencia, reaccionan hasta agotarse y partiendo de un sistema dado, se llega a otro totalmente distinto; por ejemplo, cuando reacciona el sulfato potásico sobre el cloruro de bario, en medio acuoso:

$$SO_4\,K_2 + Cl_2\,Ba = SO_4\,Ba + 2\,Cl\,K,$$

o un sistema cualquiera de cuerpos que puedan formar otro muy insoluble en el medio de dispersión en presencia, o muy volátil a la temperatura a que se opera; también forman sistemas de esta especie, los ácidos fuertes y las bases enérgicas cuando se neutralizan mutuamente. A reacciones de este tipo se las llama *completas* o *ilimitadas* y aun cuando, rigurosamente hablando, nunca tienen ese carácter, prácticamente se las considera como tales, porque la fracción de materia que no sufre la transformación del sistema, es pequeñísima, y algunas veces inapreciable a nuestros medios de investigación.

Reacciones parciales.

La mayoría de las reacciones químicas, se realizan de manera distinta a la citada; los cuerpos de que se parte, dejan de reaccionar en presencia de una cierta masa de los cuerpos que

resultan de la reacción, para una presión o temperatura dada, y estas reacciones *incompletas* o *parciales* son las que nos importa considerar, porque en ellas están todas las reacciones bioquímicas.

Calentando en un tubo cerrado a 445°, cantidades equivalentes de iodo y de hidrógeno, estos cuerpos no se combinan total o completamente para formar gas yodhídrico, sino que solo el 79 por 100 de la masa reaccionante se transforma; el resto, o sea el 21 por 100 de los cuerpos reaccionantes, no se combinan. Por otra parte, si en otro tubo cerrado, calentamos a la misma temperatura (445°) ácido yodhídrico, se descompondrá sin cambio de volumen ni de presión; el fenómeno será visible porque aparecerán los vapores violetas de yodo, pero la descomposición no será total, se descompone solamente el 21,5 por 100 del gas encerrado en el tubo; es decir, que en los dos tubos, tendremos una composición cuantitativa idéntica, o sea una mezcla de yodo, hidrógeno y yodhídrico, de igual composición centesimal.

Reacciones reversibles.

Las reacciones con las que se llega a un mismo estado final partiendo de estados iniciales distintos, se denominan *reacciones reversibles* y cuando se ha llegado a ese mismo estado final, se dice que los *sistemas reaccionantes* están *en equilibrio* y se representan como las reacciones completas o totales, pero sustituyendo en la igualdad química el signo igual por el de reversibilidad $\rightleftharpoons$: así, representaremos la citada reacción entre el yodo y el hidrógeno a 445°, o la descomposición del ácido yodhídrico a esta temperatura, por la expresión:

$$I_2 + H_2 \rightleftharpoons 2HI.$$

La eterificación, reacción química por la cual un ácido en presencia de un alcohol forma agua y un ester o éter sal, es otro ejemplo de reacción reversible (sea la directa), porque el agua en presencia del ester, regenera el alcohol y el ácido de que se partió, reacción inversa a la anterior y que se denomina saponificación:

$$CH_3\text{-}COOH + CH_3\text{-}CH_2OH \rightleftharpoons CH_3\text{-}COOCH_2CH_3 + H.OH.$$

etanóico + etanol $\rightleftharpoons$ etanoato de etilo + agua

llegándose siempre, para las mismas masas reaccionantes de

iguales cuerpos, a igual temperatura y presión, a un estado de equilibrio producido entre masas de alcohol y de ácido de una parte, de estos y de agua de otra, cuantitativamente constantes, ya se haya partido de la mezcla alcohol ácido, ya se haya partido de la mezcla ester agua.

Equilibrio químico.

El equilibrio químico, no significa independencia absoluta entre los cuerpos que están mezclados, sino compensación de acciones recíprocas, luego el equilibrio de un sistema químico no es estático, sino dinámico. Estas reacciones de equilibrio, presentan grandes analogías con los cambios de estado físico y con la formación de sistemas dispersos, sobre todo si el grado de dispersión es muy elevado: pueden interpretarse, teniendo en cuenta el equilibrio cinético de las moléculas definido por Clausius. Supuesta una masa de agua en una vasija cerrada y supuestas constantes la temperatura (20°) y la presión, se llega a un equilibrio entre el agua líquida y el vapor de agua, en el que aparentemente, ni el agua liquida se evapora, ni el vapor de agua se condensa; pero esto no es más que una apariencia: en realidad el agua continúa evaporándose y el vapor licuándose, pero las masas que cambian de estado por unidad de tiempo, son las mismas, estableciéndose entre el vapor de agua y el agua líquida, no un equilibrio estático o de reposo, sino dinámico o de movimiento.

La idea de comparar los sistemas en equilibrio físico o químico, fué debida a Williamson y después ha sido desarrollada por Guldberg y Waage.

Principio de Le Chatelier.

Cuando en un sistema en equilibrio químico se modifican la temperatura o la presión, el equilibrio se desplaza en uno o en otro sentido, previendo el principio de Le Chatelier, el sentido de esta variación. Este principio se enuncia diciendo, que «un sistema en equilibrio físico o químico sufre un cambio tal por variación de uno de sus factores, que si él sólo se produjera, provocaría una modificación del factor (del factor variado) de equilibrio en sentido opuesto»; a este principio se le llama también de la resistencia de la reacción a la acción.

Ley de Van t' Hoff.

Si suponemos que en un sistema físico o químico en equilibrio, la presión permanece constante, y la temperatura varía, el equilibrio se desplaza de tal manera, que si la temperatura des-

ciende, los compuestos de formación endotérmica tienden a aumentar y los de formación exotérmica a disminuir, mientras que si la temperatura se eleva, el desplazamiento se realiza en sentido inverso, tendiendo a formarse los exotérmicos y a disminuir los endotérmicos. Esta es la ley de Van t' Hoff, denominada principio de equilibrio móvil.

Velocidad de reacción.

Velocidad de reacción, es la cantidad de cuerpo reaccionante (expresada en moléculas gramos), que se transforma en cada sistema en la unidad de tiempo y de volumen: teniendo en cuenta este concepto, puede definirse el equilibrio químico, como un estado en el cual las velocidades de reacción en uno y otro sentido (directo e inverso), son iguales, $v = v'$.

El número de moléculas de los cuerpos reaccionantes, contenidos en la unidad de volumen se llama *concentración* y también *masas activas de los cuerpos reaccionantes.*

Ley de las masas.

La velocidad de las reacciones, se determina tomando como base la llamada ley de la acción de las masas de Guldberg y Waage y operando o bien experimentalmente o por razonamientos teóricos: esta ley se enuncia diciendo «en un momento dado, la velocidad de una reacción, es proporcional a las masas activas, o sea a la cantidad de substancias que existen en el mismo instante, por unidad de volumen (concentración)». Esta ley se aplica sin restricción alguna a la disociación iónica y de esta aplicación, se deducen muy importantes consecuencias, entre ellas el concepto de *producto de solubilidad* (Ostwald), que cuando alcanza un valor determinado, se produce el equilibrio en la disolución.

El equilibrio de un sistema, químico o físico, varía con la concentración de cada componente, pues es función del número de moléculas en presencia de cada fase reaccionante por unidad de volumen. Si representamos por c_1 c_2 ..... las concentraciones en volumen o masas activas, y por k un coeficiente de velocidad constante, para una temperatura dada, e independiente de las concentraciones, la velocidad de la transformación en sentido directo, será:

$$v = k\, c_1\, c_2 \ldots\ldots$$

si c'_1 c'_2 ..... son las masas activas de las moléculas que se for-

man por la reacción directa, las cuales reaccionan entre sí, para producir la reacción inversa, con el coeficiente de velocidad k', tendremos, que la velocidad v' de esta reacción inversa será:

$$v' = k' \, c'_1 \, c'_2 \, ...$$

y en el momento del equilibrio, en el que $v = v'$ o sea $v - v' = 0$, tendremos:

$$k \, c_1 \, c_2 \, ... = k' \, c'_1 \, c'_2 \, ...$$

igualdad que expresa la ley fundamental de la estatica química, y de la que se deduce, que basta cambiar la concentración de uno de los cuerpos en presencia, para que el equilibrio se perturbe o de otro modo dicho, se desplace, cuando varía la masa de uno de los cuerpos en presencia.

Si consideramos el sistema supuesto, en un momento dado, caminando hacia su estado de equilibrio, la velocidad V, será:

$$V = v - v' = k \, c_1 \, c_2 \, ... - k' \, c'_1 \, c'_2 \, ...$$

igualdad que expresa la ley fundamental de la cinética química.

Si $n_1 \, n_2 \, ... \, n'_1 \, n'_2 \, ...$ representan el número real de moléculas que toman parte en la reacción, considerando la trayectoria de estas moléculas, en la masa reaccionante, el número de choques será proporcional a las concentraciones,

$$c_1 \, c_2 \, ... \, c'_1 \, c'_2 \, ...$$

el número de choques simultáneos de n moléculas semejantes de concentración c, será proporcional a c^n: las velocidades de la reacción considerada en cada sentido, serán:

$$v = k \, c_1^{n_1} \, c_2^{n_2} ..... \qquad v' = k' \, c'^{\,n'_1}_1 \, c'^{\,n'_2}_2 .....$$

y en el momento del equilibrio, en que $v = v'$ tendremos:

$$k . \, c_1^{n_1} \, c_2^{n_2} = k' \, c'^{\,n'_1}_1 \, c'^{\,n'_2}_2$$

de donde:

$$\frac{k}{k'} = \frac{c'^{\,n'_1}_1 \, c'^{\,n'_2}_2 .....}{c_1^{n_1} \, c_2^{n_2} .....} = K$$

al valor de K, se le denomina *constante de equilibrio.* Constante de equilibrio.

Esta ecuación que expresa la condición de equilibrio de un sistema, se llama ecuación de Guldberg y Waage y la Termodi-

námica, proporciona una demostración rigurosa de esa ecuación, independientemente de toda hipótesis sobre el movimiento de las moléculas y las probabilidades de sus choques: ello constituye, el fundamento científico del estudio de los equilibrios químicos.

El lector comprenderá que no está dentro del objeto de este libro, el exponer esas demostraciones, pero las encontrará muy bien desarrolladas, con los principios de Termodinámica aplicados a los fenómenos químicos, en la obra del Dr. Plans [1].

Caso de equilibrio químico inestable.

Cuando los sistemas en equilibrio no sufren modificación alguna capaz de degradar su energía, el equilibrio será estable, e inestable en el caso contrario; de otro modo se expresa esta condición, enunciada por Gibbs, diciendo que el equilibrio sólo tiene realidad, cuando de todas las modificaciones posibles del sistema, no hay ninguna capaz de aumentar su entropia. Toda modificación de equilibrio, va acompañada de una variación de calor (positiva o negativa) lo que corresponde, á una degradación de la energía del sistema, o sea a un aumento de entropia.

Termodinámicamente considerada, la termogénesis, es uno de los atributos esenciales de la materia viva, luego en el sistema viviente, se realiza de un modo constante un aumento de entropia o de otro modo, una degradación de energía, que pone de manifiesto el hecho de que el equilibrio quimico, es incompatible con la vida. La degradación de energía que en la materia viva de un modo constante se realiza, tiene, considerada en pequeños espacios, muy poca intensidad, lo que significa que las reacciones químicas generadoras de los procesos vitales, son transformaciones que se realizan en condiciones muy próximas a sus condiciones de equilibrio, pero que a este no llegan, más que cuando la materia, deja de ser el lugar donde se realizan los actos propios de la vida material.

La evolución de la materia viva, se verifica con sujeción a las leyes generales de la energética, las transformaciones bioquímicas, cumpliendo los principios de la termodinámica, se realizan en condiciones muy próximas a su estado de equilibrio, no del modo violento conque generalmente reacciona la materia inerte, produciendo reacciones en general fuertemente endotérmicas, pero hay un gran grupo de fenómenos, quizá los más im-

portantes en los procesos vitales, que son las acciones diastásicas, en los cuales se contiene una dificultad para el estudio de los fenómenos vitales, según este criterio general, con que venimos exponiendo todas estas cuestiones; para tratar este asunto, hemos de plantear el concepto de catalisis química en general, para estudiar después en particular, la catalisis bioquímica.

Falso equilibrio

En Mecánica, como en Química, persisten fuera de sus condiciones normales, estados de equilibrio que para diferenciarlos del equilibrio normal, se denominan *falsos equilibrios*. Un reloj al que se dió cuerda, pero en el que la máquina no comienza a funcionar; una piedra de gran masa que rueda por una pendiente y en un momento dado se detiene, son ejemplos de falsos equilibrios, de los que sale el sistema con un pequeño esfuerzo, un golpe o un poco de grasa en el motor del reloj, un pequeño esfuerzo sobre la piedra, consiguen vencer el obstáculo momentáneo que se oponía a que el reloj o la piedra siguieran su marcha con normalidad.

Por el calor aumenta la velocidad de las reacciones.

En Química, se presentan con mucha más frecuencia estos casos de falso equilibrio y cuerpos en presencia, que según las leyes de la Termodinámica debieran reaccionar, no reaccionan. Dos cuerpos en presencia capaces de reaccionar, por ejemplo el hidrógeno y el oxígeno, aun en las proporciones exactas para formar agua, se conservan mezclados indefinidamente, sin reaccionar a la temperatura ordinaria, este es un caso de falso equilibrio, pero si la temperatura se eleva en solo en punto de su masa, hasta 130°, la reacción allí se inicia, y violentamente se propaga por toda la masa, produciendo explosión con todas sus manifestaciones mecánicas. Se interpreta este fenómeno, diciendo que a la temperatura ordinaria, la reacción tiene lugar con una velocidad tan pequeña, que para nosotros pasa desapercibida y la pequeñísima variación energética que en ella se realiza, no podemos apreciarla. Una elevación de temperatura, aumenta la velocidad de la reacción, tanto, que se ha establecido que por un aumento de 10° en el sistema, la velocidad se hace de 2 a 7 veces mayor [2], de donde se deduce, que una reacción que a 600° se realiza en un segundo de tiempo, necesitará para verificarse a 0°, el transcurso de unos millones de siglos. Se deduce de

estos hechos, que el calor modifica la velocidad de las reacciones, aumentándola, y hace salir de su falso equilibrio, los sistemas químicos que en él se encontraban, pero no es esta, la causa modificadora de la velocidad de reacción, que más nos interesa estudiar.

Catalisis química.

Si en la mezcla de oxígeno e hidrógeno, supuesta a la temperatura ordinaria, que constituye el caso de falso equilibrio que consideramos, se introduce esponja de platino, se observará que el volumen de la mezcla disminuye, mientras que el platino se pone incandescente y por último la combinación total con explosión se produce: los sistemas formados por los cuerpos en presencia, $Cl + H$, $NH_3 + HCl$, se encuentran en estado de falso equilibrio, que se rompe, si en presencia del sistema se encuentra una pequeña cantidad de agua; de manera análoga, en el sistema $C_2 H_4 + H_2$, se produce la reacción química que da lugar a la formación del $C_2 H_6$, cuando se pone en presencia de niquel muy dividido.

Catalizadores.

Estos fenómenos químicos, producidos porque la presencia de un cuerpo modifica la velocidad de reacción de un sistema, se denominan *catalisis*, y al cuerpo que como la esponja de platino, el agua o el niquel muy dividido, produce el fenómeno en los casos citados, se denomina *catalizador*.

Catalizadores positivos o negativos.

Los catalizadores, obran en general aumentando la velocidad de las reacciones, pero hay casos, en los que la presencia del catalizador, da lugar a que la velocidad de la reacción disminuya: de aquí se deduce la división de los catalizadores, respectivamente, en *positivos* y *negativos*: ejemplo de catalizadores positivos, son los citados en las reacciones expuestas y de negativos, se pueden citar entre otros, el ion CN' en muchos casos; una traza de ácido que retarda la descomposición del $H_2 O_2$, etc.; conviene advertir, que un mismo cuerpo, el agua por ejemplo, obra como catalizador positivo o negativo, según el sistema de cuerpos en presencia.

Variedad de las reacciones cataliticas.

Los catalizadores provocan muy variadas acciones químicas; entre los ejemplos de catalisis, pueden citarse acciones hidratantes, de oxidación, de reducción, condensaciones, descomposiciones, etc., etc., y generalmente no son específicos de tal o cual reacción, ni aun de los del mismo tipo, así por ejem-

plo, el platino muy dividido, cataliza en reacciones de hidrogenación, y en reacciones de oxidación.

En algunos casos, el catalizador no sufre aparentemente transformación, pues terminada la reacción, se le encuentra con la misma masa e iguales propiedades que tenía antes de provocar el fenómeno de catalisis, pero en otros casos, el catalizador se modifica y aún se observa muchas veces, que un catalizador *nuevo*, no es apto para producir inmediatamente su acción catalítica, tardando cierto tiempo a ponerse en régimen, y al cabo de un cierto tiempo de servicio, envejece y deja de obrar como tal catalizador. Siempre se observa en los casos de catalisis, que hay una desproporción entre la masa del catalizador y la masa del sistema sobre que actúa; una mínima cantidad de catalizador, es susceptible de transformar masas enormes de cuerpos reaccionantes.

Catalisis.

Bercelius fué quien en 1836, introdujo en la Ciencia la palabra *catalisis*, dando el nombre de fuerza catalítica, a la propiedad especial de algunos cuerpos, de actuar por su presencia, no por su afininidad, sobre los cuerpos reaccionantes a la temperatura de la experiencia.

Variaciones de velocidad de reacción.

Buscando el modo de conciliar la anomalía aparente de este género de reacciones con los principios de la Química-física, Ostwald establece en el estudio de los fenómenos catalíticos el concepto de *velocidad de reacción*[3] y actualmente, son las ideas de Ostwald, las que dominan en la Química catalítica. Un catalizador, según estas ideas, no es más que un cuerpo que modifica la velocidad de una reacción química, sin formar parte, de los cuerpos que de la reacción resultan; como su papel se reduce a modificar la velocidad de la transformación, sigue como consecuencia de este concepto, que las reacciones que los catalizadores producen, son por naturaleza capaces de producirse sin intervención de catalizador alguno, y esto pone de acuerdo la catalisis con la termodinámica. Traube[4] admite que las reacciones pueden ser, no sólo aceleradas o retardadas, sino hasta provocadas por el catalizador, y entre estas ideas y las de Ostwald, no hay otra diferencia, que la barrera metafísica que separa estos dos conceptos, reacción de velocidad infinitamente pequeña, y reacción que no se verifica.

La causa de los fenómenos catalíticos.

Sobre cual sea la causa de los fenómenos catalíticos y para explicar su mecanismo, se han dado varias teorías que no haremos más que citar y solo las más importantes, porque el exponerlas y documentarlas, está fuera del objeto de este libro. Playfair[5] asemeja la fuerza catalítica a la afinidad química, idea que Bunsen precisa mucho más, interpretando la catalisis como resultado de la acción de la masa del catalizador. Suponiendo la catalisis como consecuencia de una modificación molecular, Raschig[6] expone su teoría, atribuyendo al catalizador la propiedad de transformar la materia catalizada en un isómero tautómero, susceptible de fácil transformación: estas ideas fueron ya expuestas cincuenta años antes por Schönbein[7], pero aparte un corto número de hechos experimentales en que se apoya, esas modificaciones moleculares no han podido ser comprobadas. Paal y Gerum[8] hacen observar la importancia que en los fenómenos de catalisis tiene la adsorción, modernizando ideas Rouppe y Norden, Vogel, de Saussure y otros.

El punto de partida de los fenómenos catalíticos es, en opinión de Löw[9], la división de la molécula catalizada en átomos y obtenida así una materia en estado naciente, por su mayor actividad química, inicia una reacción que después continúa; estas ideas han sido experimentalmente confirmadas por varios investigadores, entre otros Cooke, Sohuka, Graham, estudiando la oclusión del hidrógeno Winkelmann, Clausis, Traube, Liebermann y otros; en este sentido tienen particular interés para el estudio de los fenómenos catalíticos, los trabajos de Bredig y Fortner[10] sobre la disociación molecular del agua. Los trabajos de Löw son el preliminar de la teoría de Euler[11], que funda los fenómenos catalíticos, en la ionización del medio en que se verifican, produciendo el catalizador un aumento en el grado de ionización del agua, cuando se opera en medio acuoso, y ya es sabido, que este grado de disociación, tiene mucha importancia en el desarrollo de los fenómenos químicos, que en presencia del agua se realizan.

Teorías físicas.

También se han establecido teorías puramente físicas, para explicar los fenómenos de catalisis, siendo entre estas la más antigua la teoría mecánica de Liebig que reduce la catalisis, a una comunicación de movimiento, del catalizador, al cuerpo catali-

zado. Mendelejeff[12] supone que dos cuerpos en contacto, modifican su movimiento interno molecular o atómico y si llegan a un estado de cambio inminente, un pequeño esfuerzo, el del catalizador, provoca la reacción: Barendrecht, atribuye la catalisis a la emisión de una radiación particular[13], emitida por el catalizador y que al ser absorbida por el cuerpo catalizado, produce la reacción: estas radiaciones no son de orden vibratorio, sino de orden material. Por último, Achalme, plantea una teoría electrónica de la catalisis.

Las ideas actuales para explicar la causa de los fenómenos catalíticos, pueden agruparse en dos géneros de teorías, unas que hacen intervenir las propiedades físicas del catalizador, y otras que admiten la existencia de reacciones químicas intermediarias entre el catalizador y los productos sobre los cuales ejerce su acción. Físicamente, el catalizador actúa no por su masa, sino por su superficie, que en contacto con los cuerpos, produce diversos fenómenos de adsorción, eléctricos, etc.; químicamente, la experiencia demuestra en un gran número de casos, que los compuestos intermediarios se forman, puesto que han podido aislarse.

Formación de compuestos intermediarios.

Supone Matignon[15], que siempre que un cuerpo obra como catalizador, existen cuerpos intermediarios, explicando por analogía con fenómenos mecánicos la acción de los catalizadores.

En el ejemplo sencillo con que hemos comenzado a exponer estas ideas, podemos encontrar estas reacciones intermedias; la combinación $H_2 + O$, es teóricamente posible y sin embargo a la temperatura ordinaria, no se realiza de modo que podamos apreciarla: el musgo de platino en presencia del hidrógeno, forma a la temperatura ordinaria un hidruro, que en presencia del oxígeno produce agua, quedando el platino libre y en condiciones de formar de nuevo el hidruro, que en presencia del oxígeno se descompone, etc., por todo lo cual, el platino, al final de la reacción, se encuentra químicamente en el mismo estado en que antes de la reacción se encontraba.

Insistiendo sobre las ideas de Ostwald a que ya nos hemos referido, diremos que los catalizadores no hacen realmente más que modificar la velocidad de una reacción, posible, según las leyes de la termodinámica. Los catalizadores positivos, o sea

Los catalizadores, como modificadores de velocidad de reacción.

los que obran aumentando esa velocidad, o activando la reacción, hacen posible a más baja temperatara, reacciones que sin el catalizador se verifican a temperatura más elevada por ejemplo: la descomposición del clorato potásico que antes se utilizaba más que ahora para la obtención del oxígeno, era una operación peligrosa por la rápida descomposición del perclorato que en una fase de la reacción se forma; pero si al clorato se añade bióxido de manganeso, el peligro no existe y el desprendimiento del oxígeno, se verifica de un modo regular: la causa de esta variación, es un fenómeno catalítico; el clorato potásico solo, se descompone a 360° y como a 352° se forma perclorato, es claro que simultáneamente con su descomposición, hay formación de perclorato; pero en presencia del bioxido de manganeso, la descomposición del clorato comienza a 280° y a esta temperatura, el perclorato no se forma. De otro modo, el catalizador, ha hecho posible a 280°, una reacción que sin él no se verifica sino a 360°.

El ácido fórmico, se descompone en agua y óxido de carbono en caliente y en presencia del ácido sulfúrico:

$$HCO\,OH = CO + H_2O$$

e igual descomposición experimenta a la temperatura ordinaria, por solo la presencia del negro de rodio, que obra como catalizador.

La Química biológica es Química catalítica.

Este concepto tiene en bioquímica una gran importancia. Toda la Química biológica es fundamentalmente Química catalítica, y para que podamos llegar a reproducir *in vitro* las reacciones químicas que en los seres vivos se verifican, precisa conocer los catalizadores apropiados, por los cuales tienen lugar a temperaturas muy próximas a la ordinaria, reacciones que *in vitro* no se producen mas que en condiciones muy alejadas de las que *in vivo* se realizan. El nitrógeno y el oxígeno se combinan directamente a 2000°; en presencia del niquel muy dividido, a 1000° y en presencia del negro de platino a temperatura mucho más baja, en todos los casos, para producir reacciones análogas.

De todas las causas que producen el aumento de la velocidad de las reacciones, solo la catalisis es aplicable a los fenóme-

nos vitales, porque es la única compatible con la integridad del medio, cuyas condiciones de vida exigen unas variaciones de temperatura, de concentración, etc., comprendidas entre límites muy próximos.

Catalizadores bioquímicos.

Los cuerpos que actúan como catalizadores sobre la materia viva, son los *catalizadores bioquímicos* y la mayoría de las reacciones intercelulares, tienen lugar por la acción de los catalizadores bioquímicos denominados *diastasas*, que actuando bajo la influencia de las condiciones físicas y químicas del medio, producen la mayor parte de las reacciones catalíticas de la materia viva, lo que equivale a decir, que producen la mayoría de los fenómenos vitales.

Concepto de las diastasas.

Para fijar el concepto de las diastasas, vamos a referirnos a unas experiencias que con el mismo objeto citan varios autores Arthus [16], Guilleminot [17] y otros, pero que a pesar de esto nos referiremos a ellas, porque hace varios años que realizamos algunas investigaciones [18], por las cuales podemos interpretar cuantitativamente, los hechos experimentales a que nos vamos a referir.

Si sembramos en placas Petri que contienen caldo de cultivo esterilizado, *saccharomyces ellipsoideus*, teniendo la capa de caldo unos 2 mm. de espesor, llevadas las placas a la estufa, a 27°, el microbio asimila los elementos del azúcar útiles para su protoplasma, aprovechando la energía de las reacciones de combustión que provoca, desprendiendo gas carbónico y agua; pero a pesar de tratarse de una levadura alcohólica, sembrada en un caldo apropiado, cuya riqueza en azúcar es tal que puede producirse un líquido alcohólico de 6°,7, no encontramos en el caldo más que 0°,6 de riqueza alcohólica, trascurridas 86 horas, después de hecha la siembra.

Levadura como vegetal.

Esta enorme desproporción entre el alcohol producido y el que podía producirse, es debida a que en las condiciones de aireación por la gran superficie del caldo en contacto con el oxígeno del aire, la levadura ha hecho una vida casi exclusivamente aerobia, pues su vida anaerobia viene a estar representada, por la pequeñísima cantidad de alcohol producido por la levadura depositada en el fondo de la placa, a la cual no llegó la cantidad de oxígeno necesaria para su completa vida aerobia: en estas

condiciones, la célula viva no ha hecho más que proveerse, tomándolo del medio, de la materia y de la energía que para su vida necesitaba, y multiplicarse con una velocidad extraordinaria, produciendo un gran depósito de levadura: en esta experiencia, el desdoblamiento de la glucosa puede representarse casi totalmente por la igualdad:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O.$$

Levadura como fermento.

Pero operemos en otras condiciones bien distintas: coloquemos el caldo de cultivo en tubos de vidrio de 0,25 m. de longitud y 0,015 m. de diámetro, estrangulados en la parte superior y llenos de líquido hasta muy cerca de la parte más estrecha de la región estrangulada, sembremos cada tubo, con el mismo cultivo puro de *saccharomyces ellipsoideus*, que empleamos en la experiencia anterior, y llevados a la estufa, a 27°, al cabo de 42 días, la fermentación ha terminado y el azúcar fué desdoblado, produciendo un líquido de 6°,3 de alcohol, es decir, casi la cantidad teórica, 6°,7, que por su riqueza en azúcar (10,5 por 100 de glucosa, o sea 10 por 100 de sacarosa), debiera producir.

En esta experiencia, el microbio ha hecho una vida casi exclusivamente anaerobia; una muy pequeña parte del azúcar, se ha desdoblado como en el caso anterior, para formar parte del microorganismo, por lo cual la cantidad de levadura producida, ha sido muy pequeña: la mayor parte del azúcar, se ha desdoblado en alcohol y gas carbónico, porque la pequeña cantidad de oxígeno en presencia, impide que la oxidación de la glucosa sea completa.

En nuestro primer grupo de experiencias, suceden las cosas de modo que se observa una proporcionalidad entre la energía y la materia transformadas, y las exigencias de vida del microorganismo que se reproduce, mientras que en el segundo, cuando obra como fermento, se desdobla una cantidad de glucosa mucho mayor que la que el microbio necesita para las exigencias de su vida; no equivalen la materia transformada y la energía liberada, a las necesidades del organismo; aquí parece que hemos encontrado un fenómeno tan propio de vida, que se escapa de las leyes generales de la Química, pues se atribuía a una acción vital, diferente de las acciones químicas, el desdoblamien-

to de la glucosa en el caso citado, principalmente en alcohol y gas carbónico.

Pero E. Buchner, poniendo en claro estas acciones, inició la conversión de esos fenómenos que parecen vitales, en fenómenos químicos del grupo de los catalíticos. La experiencia de Buchner[19] consiste en pulverizar la levadura alcohólica, para obtener el jugo de la levadura, pero como esta operación, no puede hacerse directamente, porque la célula de levadura es muy pequeña y elástica, *descorteza las células*, mezclando la levadura lavada y seca, con arena de cuarzo muy fina y tierra de infusorios; tritura la mezcla en un mortero y la exprime después con ayuda de una prensa hidráulica a 300 ó 500 atmósferas de presión. El jugo obtenido, es un líquido amarillento que observado al microscopio, no contiene traza de elemento figurado; es el contenido celular que se puso en libertad, cuando los granos de arena desgarraban las células.

Experiencia de Buchner.

Unas gotas de este líquido añadidas a caldos esterilizados, cuya composición química es la conveniente para transformarse por fermentación alcohólica, producen el desdoblamiento de la glucosa, de manera análoga a como le producen las células de levadura, transformando algunas gotas de ese jugo, masas enormes de glucosa, sin que en el líquido aparezca célula viva alguna.

Esta célebre experiencia de Buchner, es perfectamente general y de cada microorganismo productor de fermentaciones diversas (láctica, acélica, etc.), pueden extraerse materias solubles que ellos producen, y que son capaces de provocar las reacciones, que para los microorganismos de que se parte son específicas. A estas substancias producidas y segregadas por las células vivas, ya formen parte de tejidos, ya posean vida autónoma, que son capaces de producir por acción catalítica procesos químicos, se las denomina *diastasas*. La citada diastasa alcohólica, llamada también *zymasa* o *alcoholasa*, es una de ellas, pero se conocen muchas y se clasifican, atendiendo al género de reacciones que provocan y después a la transformación específica que son capaces de producir.

Fenómenos vitales que son fenómenos de Química catalítica.

El estudio de las diastasas es muy importante bajo el punto de vista biológico, pues de él ha de deducirse, si no el completo

Las diastasas en Biología.

conocimiento del mecanismo de los fenómenos vitales, sí el de ciertas transformaciones íntimamente relacionadas con ellos, pues las acciones diastásicas, son precisas para la vida y para la defensa de los organismos: el trabajo químico de la célula viva, es el resultado de una compleja acción de diastasas, cuyo funcionamiento se regulariza en sentido favorable a la vida, estando compensada la acción destructora de las acciones analíticas o de descomposición, con las de las diastasas de función sintética, o de constitución del organismo. Por otra parte, y este punto de vista tiene mucho interés, algunos fenómenos que antes se consideraban como característicos de la vida, se consideran hoy como fenómenos puramente químicos, como consecuencia del estudio de las diastasas.

Si se hacen germinar unos granos de cebada y luego se someten a una desecación cuidadosa, se obtiene *malte*, al que se le da forma comercial, quitándole las raicillas (touraillons), que en el proceso de germinación se formaron. Poniendo en maceración con cinco veces su peso de agua fría, durante cuatro horas, la harina que se obtiene por pulverización de esos granos germinados, colando la masa por una tela de malla fina y centrifugando el líquido obtenido, la solución límpida contiene dos diastasas, la *amilasa*, que disuelve el almidón sin sacarificarle y la *dextrinasa*, que sacarifica el almidón, al que la amilasa dió forma soluble. Estas, como todas las otras diastasas, no se alteran en el líquido que transforman, pudiendo una pequeñísima cantidad de diastasa, transformar una gran masa de materia, siendo su acción perfectamente comparable con las de los microbios: la desproporción que en estas acciones se observa entre la causa y el efecto, es un carácter fundamental de las diastasas.

Clasificación de diastasas.

Atendiendo a las transformaciones químicas que se realizan, las diastasas han sido clasificadas por G. Bertrand, en los tres fijación grupos siguientes:

1.° Las que producen un desdoblamiento molecular con de agua (hidrolasas). Son las más numerosas.

2.° Las que fijan el oxígeno sobre las moléculas que actúan (oxidasas).

3.° Las que provocan un desdoblamiento molecular, sin que siga fijación de cuerpo alguno.

Duclaux las clasificó también, pero estableciendo mayor número de grupos y tomando como base, las acciones específicas que producen. por ejemplo, diastasas de azúcares, de glucósidos, de albuminoides, etc., y dentro de cada uno de estos grupos, establece subgrupos, atendiendo a la acción química de cada diastasa, y dice diastasas *hidrolizantes*, *deshidrolizantes*, *coagulantes*, *descoagulantes*, *oxidantes*, *desoxidantes*, etc. No tiene interés para nuestro objeto detallar ni discutir clasificaciones; basta la indicación hecha. En el concepto bioquímico sería más racional agrupar por su modo de obrar las diastasas, en *analíticas* y *sintéticas*, según que su acción se dirigiera o a simplificar las moléculas, o a reconstituirlas con los elementos procedentes de la disgregación analítica.

Constitución química de las diastasas.

Por lo que a su constitución química se refiere, las diastasas se han considerado como materias albuminoideas, pero esta idea parece cada día más dudosa. Fraenkel y Hamburg, han obtenido una amilasa del malte, que no presenta las reacciones de la albúmina; Wroblewski y Oshima obtuvieron una invertina, que solo contenía ácido fosfórico unido a hidratos de carbono; Roger ha obtenido de la yema del huevo, una diastasa que sacarifica el almidón y que no es de naturaleza albuminoidea, estableciendo por este y otros casos, un grupo de diastasas al que denomina *zymolipoides*.

Como consecuencia de estos antecedentes, puede establecerse el hecho de que las diastasas no son siempre materias albuminoideas y si una vez aisladas presentan en muchos casos esos caracteres, puede también ser debido, a que se precipitan con las albúminas que existen en el líquido y difícilmente se separan, por lo cual a la albúmina mecánicamente arrastrada, se deberá algunas veces el carácter albuminoideo de las diastasas.

Pueden suponerse constituídas las diastasas, por una materia orgánica que muchas veces es proteica, unida a una mayor o menor cantidad, de materia mineral; más adelante veremos la importancia que tiene esta materia mineral en el estudio de la acción catalítica de las diastasas y cómo pueden suponerse constituídas de este modo, pues disueltas en el agua, obran como un coloide orgánico asociado con un coloide mineral, que es la parte activa de la diastasa.

Relaciones de constitución.

La constitución química de las diastasas guarda indudablemente alguna relación con su acción como catalizador, pues cuando una misma diastasa actúa sobre diferentes cuerpos, se limita su acción, a las agrupaciones moleculares que esos cuerpos tienen comunes, y por otra parte, si no se las considera más que como *substractum* a la fuerza catalítica, no es posible estudiar la especificidad de las diastasas. Fischer admite que las diastasas atacan a los azúcares, cuando la configuración estereoquímica de éstos, es análoga a la de la diastasa, y generalizando esta hipótesis dice, que para que una diastasa actúe sobre un cuerpo, precisa que pueda adaptarse a éste, como una llave á su cerradura.

De los estudios hechos por Bertrand sobre la lacasa, deduce que esta diastasa no realiza su acción oxidante, más que sobre las moléculas cíclicas que contienen por lo menos dos grupos oxidrílicos o amidógenos, en posiciones ortho o para.

El Profesor de Atenas A. G. Phocas [20], supone que la acción catalítica de las diastasas, se comunica al cuerpo catalizado por intervención de moléculas orgánicas que las constituyen, a las que las diastasas deberán su especifidad: así cuando actúan sobre un albuminoide, tendrán constitución albuminoidea, etc.

La variedad de diastasas, no sólo por sus acciones específicas, sino por los diversos tipos de reacciones químicas que producen es muy grande.

Diversos tipos de diastasas.

Las diastasas digestivas (hidrolasas), tipos, las proteolíticas que actúan sobre la materia albuminoidea, las sacarificantes, sobre las hidrocarbonadas, etc., provocan una serie de desdoblamientos que son verdaderas hidrataciones, suficientemente conocidas bajo el punto de vista cuantitativo, porque Effront, ha podido clasificar, las proteolíticas, por ejemplo [21], atendiendo al número de moléculas de agua fijada por molécula de albúmina, o mejor, a gramos de agua fijados por 100 gramos de albuminoide. Pero en la explicación de los fenómenos vitales se puede ir más lejos; los productos de la digestión, son arrastrados por el torrente circulatorio, una pequeña parte se invierte en la construcción de tejido, y la mayor cantidad de masa se desdobla y se transforma hasta convertirse en gas carbónico y agua para producir la energía que el organismo necesita: estos procesos

analíticos se originan por la acción de unas diastasas del grupo de las oxidasas, de las cuales se conocen varias, una de ellas la tirosinasa que actúa sobre la tirosina, y la transforma en un pigmento negro (melanina) que colora los cabellos, la piel del negro, etc.

Toxicidad de algunas diastasas.

Hay algunas diastasas, para las cuales los organismos vivos son extremadamente sensibles: no actúan sobre la totalidad del organismo, sino sobre algunas de sus partes, pero tan violentamente, que entre las diastasas se cuentan las acciones tóxicas más violentas, de las que el organismo se defiende produciendo otras diastasas que inutilizan la acción de las primeras para las que resultan las segundas verdaderos enemigos, como los glóbulos blancos para los microbios. Un centímetro cúbico de caldo de cultivo del bacilo diftérico, que contiene hasta 0,0004 gramos de materia orgánica, entre la que se encuentra la diastasa tóxica, puede matar ocho cobayos de 400 gramos de peso cada uno; dos gotas del cultivo de la bacteria del tétano, matan un caballo de 600 kilogramos de peso (Vaillard); la diastasa tóxica del bacilo de la tuberculosis, produce en el hombre reacciones febriles, con menos de 0,001 de miligramo de diastasa, etc.

Diastasas defensivas de los organismos.

Y es por medio de estas peligrosas substancias, como se preparan sueros terapéuticos que ayudan a los organismos en su lucha contra esas infecciones que se llaman difteria, peste, etc. Algunas diastasas que no son tóxicas, como por ejemplo, la emulsina o la mirosina, desempeñan también el papel de diastasas defensivas de los organismos.

Síntesis por las diastasas.

Todas estas diastasas a que nos hemos venido refiriendo, no producen más que efectos de destrucción sobre las moléculas orgánicas (diastasas de digestión, etc.) o sobre los organismos (toxinas), pero frente a estas acciones de destrucción, hay otras también diastásicas, de reparación constante, y lógico es que así suceda, pues de otro modo la vida no sería más que destrucción, por sí sola, incompatible con las condiciones en que la vida se desarrolla. Los más recientes trabajos de síntesis bioquímica (V. pág. 139) permiten afirmar que por acciones diatásicas, tiene lugar la elaboración por síntesis de las moléculas orgánicas en los organismos. Así por ejemplo, la emulsina, tiene poder

hidrolizante, por el cual, la salicina por ejemplo, se desdobla en una exosa y alcohol salicílico:

$$C_{13}H_{18}O_7 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4 < \begin{matrix} CH_2OH \\ OH. \end{matrix}$$

pero más tarde, Bridel y Bourquelot, descubren en la emulsina una propiedad inversa[22] sintetizante o de reconstrucción, por virtud de la cual, han podido obtenerse por estos procedimientos bioquímicos, varios glucósidos, que antes sólo por medios puramente químicos pudieron sintetizarse.

Los trabajos más recientes sobre este importante asunto, son los en que Bourquelot y Aubry, han dado cuenta de la cristalización y propiedades de la galactobiosa[23] obtenida por síntesis bioquímica, dejando actuar durante cinco meses y doce días la emulsina, sobre una disolución acuosa concentrada de galactosa: el azúcar así obtenido, tiene un poder edulcorante, algo mayor que el de la lactosa y resulta como su nombre indica, de la unión de dos moléculas de galactosa. Los trabajos de síntesis bioquímica, han demostrado la realidad de los catalizadores bioquímicos de acción sintética, atribuyendo a estas acciones, la formación de la materia nuclear de las células.

En Fisiología, estos estudios tienen mucho interés, porque permiten pensar que las diastasas intervienen en la construcción de las moléculas y que su acción no es solo analítica y de liberación de energía, sino también sintética y de acumulación de energía.

El estudio de las diastasas en Biología.

Por el estudio de las diastasas, se aclaran muchos de los problemas de la vida titulados insondables, siempre que el problema se aborde por el lado químico, que es el más asequible. En los seres vivos, se producen diversos tipos de reacciones químicas, perfectamente semejantes a las que pueden realizarse en los laboratorios, sin más diferencia, que el método o modo de transformación, que en los laboratorios, es muchas veces violento, mientras que en la naturaleza obra suavemente, y entre los límites de temperatura a que la vida es posible: disolver el almidón y sacarificarlo, convertir algunas albúminas en peptonas, saponificar las materias grasas, hidrolizar glucósidos, etc., son transformaciones químicas que en los organismos y como

fenómenos vitales se producen, y en los laboratorios con igual resultado final se realizan: en el laboratorio, se operan las transformaciones, generalmente por la acción de los ácidos o de los hidróxidos, de un modo violento y en los seres vivos, se realizan suavemente y a la temperatura ordinaria, por acciones diastásicas; se ve que la diferencia no es de principio, sino de naturaleza de agente, y confiadamente podemos esperar, que aisladas las diastasas, a medida que vayan conociéndose, como ya se aislan muchas, en los laboratorios podrán producirse aquellas reacciones, con idéntico principio y método que en los seres vivos se realizan; el éxito de los primeros ensayos de síntesis bioquímica, autorizan a pensar así.

Cuando una planta o un animal asimila o respira, utiliza sus diastasas, que producen simultáneamente reacciones sintéticas, por las cuales se construyen moléculas y se almacena energía, y reacciones analíticas, que destruyen moléculas y liberan energía. A estas acciones diastásicas, se reducen en su mayor parte, el conjunto de fenómenos físico-químicos que constituyen la vida.

Según ideas de Loeb[24] la división celular puede relacionarse con la intervención de una diastasa: las transformaciones químicas correspondientes a los fenómenos de respiración, son indudablemente diastásicas, como ya lo supuso Cl. Bernard, al afirmar[25] que la respiración de los tejidos no es una oxidación directa, sino indirecta y realizada por agentes químicos análogos a los fermentos; actualmente, se admite que los fenómenos de respiración son puramente diastásicos[26].

Nomenclatura de las diastasas.

Según la nomenclatura propuesta por Duclaux[27], se nombran las diastasas añadiendo al nombre del cuerpo que ordinariamente transforman, la terminación *asa* que representa una desinencia genérica: así se dice *lactasa*, a la diastasa que desdobla la lactosa; *arginasa*, la que desdobla la arginina, etc.; genéricamente, se dicen *oxidasas*, todas las diastasas de oxidación, pero dentro del grupo, se dice *oenoxidasa*, a la que actúa sobre la materia colorante del vino; *oleasa*, a la que oxida el aceite de oliva; *malasa*, a la que actúa sobre la pulpa de la manzana, etc. A las diastasas, sobre todo en las obras alemanas, se las llama también *enzymas*.

Propiedades de la diastasa.

Las diastasas son cuerpos solubles en el agua e insolubles en el alcohol concentrado, que las precipita de sus disoluciones acuosas: si en un líquido que contenga disuelta una diastasa, se provoca la formación de un precipitado gelatinoso (gel), el hidróxido de aluminio es el preferido para este objeto, este, al formarse, arrastra mecánicamente la diastasa. Las diastasas se fijan sobre diversas substancias, presentando este fenómeno un caso de adsorción; así un trozo de fibrina puesto en una disolución de jugo gástrico, se impregna de la diastasa de tal modo, que por lavado puede luego separarse en cantidad apreciable. Sus disoluciones se dializan mal, o sea con pequeña velocidad y forman sistemas coloidales; de mayor grado de dispersión que las albúminas.

Acción del calor sobre las diastasas.

Su trabajo bioquímico, experimenta grandes variaciones de velocidad con la temperatura; a 0°, la acción diastásica, es casi nula, se activa a medida que la temperatura se eleva, y llega a un *optimum*, variable para cada caso, pero situado generalmente hacia 40°: si la temperatura sigue aumentando, la velocidad de la acción diastásica disminuye, hasta un límite a que se llega antes de los 100°, en el cual la reacción diastásica se anula. El calor a 100° las destruye, de modo que aun cuando el sistema vuelva después a la temperatura óptima, la acción diastásica no se realiza, porque la diastasa fué destruida, pero por enfriamiento, aun a — 190°, la diastasa no se destruye, pues adquiere su aptitud para catalizar, cuando el sistema adquiere temperatura conveniente. Este carácter, establece relaciones de analogía entre las propiedades de la materia viva y las de las diastasas; al tratar del tránsito de la materia viva a materia muerta, hemos dicho, cuál debe ser el concepto físico químico de la muerte en la materia (V. pag. 451) y análogamente repetimos aquí, que la diastasa obra como catalizador, mientras conserva su estado coloidal, pero que cuando por la acción del calor o por otro medio adecuado, pierde la estructura característica de este estado, deja de obrar como diastasa.

Estado coloidal de las diastasas.

El carácter coloidal de las diastasas, fué formulado por Henri y esta noción, ha sido desarrollada por Mlle. Philoche[28], quien de una manera precisa, define las diastasas diciendo, que son *catalizadores coloidales* específicos. Admitido este concepto, es

fácil llegar a la idea, de que cuando el carácter coloidal lo pierden, dejan de ser catalizadores, es decir, dejan de obrar como diastasas.

El equilibrio químico en las acciones diastásicas.

Es un carácter de las diastasas, el de que no se destruyen cuando actúan: la velocidad de las reacciones diastásicas, disminuyen a medida que la transformación avanza y cuando la reacción termina, queda siempre materia por transformar en presencia de la transformada; este hecho, pone en evidencia el equilibrio que se establece entre las masas reaccionantes y las de los cuerpos que resultan de la reacción: si por cualquier medio, se elimina masa de los cuerpos que de la acción diastásica resultan, la velocidad aumenta y la transformación, puede llegar a ser total, como ocurre en todos los sistemas en equilibrio. Estas observaciones y consideraciones pueden servir de explicación del hecho, de que, cuando se acumulan en el medio en que viven, los productos de la actividad bioquímica de los elementos figurados, la vida de estas células se refrena y hasta se paraliza, a una concentración determinada: ello es, porque entre los cuerpos en presencia y los que resultan de las acciones diastásicas, se establece un equilibrio incompatible con la vida del microbio que adquiere en este caso una vida latente, que se manifiesta más o menos vigorosa, cuando se eliminan los productos de su acción bioquímica o se cambia de medio. Un ejemplo claro de esta afirmación, lo encontramos en la fermentación alcohólica, aunque repetimos que el hecho es perfectamente general. La levadura alcohólica, se multiplica y vive con una cierta actividad, que en un caldo dado y a temperatura conveniente, es función de la riqueza alcohólica que produce y la fermentación se detiene, cuando la cantidad de alcohol llega a un límite, que varía con la raza de la levadura, más que con la composición del medio, suponiendo en todos los casos el medio apropiado: en este límite, que se produce por llegar a un equilibrio en la acción diastásica, la diastasa ya no cataliza, y el microbio pierde vitalidad y envejece sin multiplicarse: mejor que decir que son tóxicos para toda célula viva los cuerpos que ésta en su trabajo bioquímico produce, diremos que estos cuerpos con los materiales del medio, establecen un equilibrio químico, incompatible con la actividad vital, y todo cuerpo que por

su presencia destruya este estado de equilibrio, obrará incrementando la vitalidad de la célula.

Brown y Morris[29] estudiando el desarrollo de gérmenes de cebada sobre gelatina mezclada con gránulos de almidón, establecen el hecho experimental de que las células vivas del germen, no segregan la diastasa, más que cuando necesitan sacarificar almidón, pues si al medio en que viven se añade azúcar asimilable, dicen, ni la diastasa aparece, ni el almidón se transforma. Estas experiencias pueden interpretarse suponiendo que cuando no es necesaria, la diastasa en el germen de cebada no se produce, pero mejor, con criterio químico, y teniendo en cuenta el sentido del desplazamiento del equilibrio por la presencia del azúcar asimilable, análogo al que la diastasa produce, la reacción diastásica, no puede verificarse, mientras haya masa en exceso, de azúcar en presencia, y así se reduce este fenómeno, a un caso particular del estudio general del equilibrio químico.

Reversibilidad de las acciones diastásicas.

La más pequeña modificación de los componentes en un sistema en equilibrio químico, orienta la reacción en un sentido o en otro, hasta que llega a un nuevo estado de equilibrio; como ya hemos indicado antes, la reacción que presente ese carácter será reversible.

La idea de suponer reversibles las acciones diastásicas, es de Van t' Hoff[30] y presenta un interés teórico extraordinario, pues las diastasas que realizan una conocida acción analítica, serán susceptibles de ejercer una acción inversa (sintética) construyendo moleculas orgánicas muy complejas. En la maltasa ha sido señalada por Croft Hill[31], una acción reversible y este trabajo, ha sido el punto de partida de muchos otros, que no tiene interés detallar aqui. Según las conclusiones de Croft Hill, la reacción diastásica que estudia, llega al equilibrio, cuando las cantidades de azúcares en presencia, representan 16 por 100 de maltosa y 84 por 100 de glucosa.

Fischer y Armstrong[32], han podido obtener por síntesis un disacárido, la isolactosa, condensando mediante la diastasa del Kephir, una mezcla de glucosa y galactosa; Kastle y Loevenhart[33], estudiaron la reversibilidad en el caso de la lipasa sobre el butirato de etilo, observando la acción de saponificacion y la

de eterificación, partiendo de una mezcla de etanol y ácido butírico.

Una pequeña cantidad de diastasa, puede transformar cantidades enormes de materia, siempre que la reacción se verifique en condiciones experimentales convenientes, y terminada la reacción, la diastasa es quimicamente idéntica, a como antes de producir la reacción era. Estos caracteres hacen que se considere a las diastásas como agentes catalíticos, y siendo como son las reacciones de equilibrio, tributarias del segundo principio de la energética, la evolución de la materia viva, aparece regida por las leyes universales que rigen las transformaciones de la materia.

Las diastasas son catalizadores.

Aparecen en las diastasas, caracteres que recuerdan los de los elementos figurados, o sea los de las células vivas, lo que demuestra que como productos de la actividad celular que son, conservan su marca de origen. Las acciones vitales, como las diastásicas, se modifican por la acción del calor de manera análoga y como los microorganismos, se destruyen o mueren a temperaturas comprendidas ente 70 y 90°.

Analogías entre las diastasas y la materia viva.

Los antisépticos y los tóxicos, obran sobre las diastasas de modo análogo a como sobre las células vivas actúan esos modificadores de la actividad vital. Estas acciones se reducen a fenómenos de coagulación, o de oxidación, o también, formando con la diastasa compuestos estables, incompatibles con la acción diastásica [34].

El anhídrido sulfuroso, el ácido salicílico, los fluoruros, etcétera, actúan sobre la zymasa alcohólica refrenando o anulando sus actividades y se ofrece el caso notable, de diastasas que por un tratamiento racional, se habitúan a sus tóxicos, de modo que pueden realizar su trabajo químico, aun en presencia de dosis, que de no estar habituada la levadura, serían mortales y análogamente se dice, que se habitúan a sus tóxicos las células vivas, como el organismo humano, por ejemplo, se habitúa al arsénico y llega a soportar sin peligro de muerte, dosis mortales para organismos no habituados.

Esta propiedad de las diastasas, que con referencia a la zymasa alcohólica, la demostramos hace unos años [35], ha sido demostrada recientemente para otros muchos casos, según se deduce de

Las diastasas se habitúan a sus tóxicos.

la necesidad de variar los antisépticos por perfectos que sean cuando se repiten durante algún tiempo, pues fatalmente se habitúan a él los gérmenes infecciosos, lo bastante para que la acción antiséptica disminuya notablemente: este hecho que se ha demostrado perfectamente en el caso de heridas externas, [36] tendrá aplicación en las enfermedades internas de origen microbiano, por ello sin duda, se observa que por ejemplo en los tuberculosos, cada medicación nueva, provoca durante los primeros días resultados muy favorables, y quizá la persistencia de un mismo medicamento tóxico para el microbio, haga que se habitúe a él y ello tendrá interés en los casos de la malaria, sífilis, tifoidea, etc.

Consecuencias de la experiencia de Buchner.

La célebre experiencia de Buchner ya citada, (V. pág. 299) por la cual rota la célula y recogido el contenido celular, sigue este produciendo acciones químicas que antes se consideraban como producidas únicamente por el conjunto de materia y energía que constituye la célula viva, enseña más que las experiencias de merotomía celular (V. pág. 43), sobre el carácter de la vitalidad de la materia. Los más recientes trabajos de merotomía celular, que ya pueden llamarse de disección de la célula, demuestran que no precisa un núcleo y un citoplasma para que exista la vida, sino que es suficiente un fragmento de la materia citoplasma, y otro de la nuclear, para que la vida se manifieste con todos los caracteres que en el concepto bioquímico la definen: estos hechos demuestran que *la forma no es generadora de la vida* y hacen descender en orden de importancia a los estudios morfológicos, por los que como es natural comenzó el estudio de la Biología. Por la experiencia de Buchner, la célula pierde su individualidad y con ella algunos caracteres vitales, pero no todos, porque algunos (las acciones diastásicas), siguen produciéndose, como si la célula viva estuviera en presencia.

Estudio de las acciones diastásicas.

Investigando para encontrar una ley de acción de las diastasas, se ha tratado de estudiar si la llamada ley de la acción de las masas o de Guldberg y Waage (V. pág. 289) se puede aplicar a las acciones diastásicas, pero para deducir esto, es preciso medir de algún modo la velocidad de transformación del cuerpo o de los cuerpos que por la acción diastásica se transformen, es decir, la relación entre la cantidad de masa transformada y el tiempo necesario para esta transformación. Para llegar experi-

mentalmente a conocer el valor de esta velocidad, se pueden seguir distintos métodos, bien sea midiendo el valor del llamado coeficiente de afinidad, o determinando la cantidad de materia transformada en igual tiempo, en dos sistemas que contienen el mismo cuerpo a transformar, a concentraciones distintas, o también, determinando el tiempo necesario, para transformar proporciones iguales de materia, en dos sistemas de concentraciones diferentes.

Condiciones que debe reunir el sistema.

Para llegar a estas comprobaciones experimentales, es preciso operar con sistemas de uniformidad conveniente, para poder suponer igualmente repartida la masa que se transforma por todo el líquido y además, que los cuerpos que de la acción diastásica resulten, han de poderse determinar cuantitativamente por métodos analíticos suficientemente seguros, por todo lo cual, los estudios correspondientes a las diastasas que actúan sobre las materias albuminoideas, son los más difíciles de hacer.

Investigaciones sobre la sucrasa.

Entre las diversas reacciones diastásicas, se ha preferido para iniciar estos estudios, la inversión de la sacarosa, por que esta reacción es monomolecular y el agua se encuentra siempre en tan gran exceso, que su concentración puede ser considerada como constante. O'Sullivan y Tompson, fueron los primeros investigadores que en 1890, comenzaron a estudiar esta acción diastásica con objeto de llegar a una ley general[37] y encontraron que la transformación de la sacarosa por la sucrasa, considerada en función del tiempo, puede compararse con la ley encontrada por Wilhelmy[38] para la inversión de la sacarosa por los ácidos, ley que está perfectamente de acuerdo con la de las masas de Guldberg y Waage, pues expresa, que para una misma dosis de ácido, la cantidad de azúcar invertido en un tiempo dado, es proporcional a la concentración.

La ley que regula la inversión de la sacarosa por los ácidos (ley de Wilhelmy), expresa que el coeficiente de afinidad K, es constante durante todo el tiempo que dura la transformación y su valor puede representarse por la fórmula:

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x}$$

en la que t representa el tiempo, a la concentración de azúcar

y x la cantidad de materia transformada. A Brown, estudiando velocidades en esta reacción[39], deduce valores distintos a los que se obtendrían si la ley logarítmica se cumpliera rigurosamente y demuestra que el valor K, no es constante mientras se verifica la inversión de la sacarosa por la sucrasa, resultado confirmado por V. Henri, en determinaciones muy detalladas de las cuales se deducen aceleraciones en la velocidad de la reacción[40] por las cuales aparecen las diastasas, actuando según una ley más rápida que la que regula la inversión del azúcar por los ácidos: estos hechos ha tratado Henri de representarlos por medio de una fórmula empírica, que establece, sumando el valor de x, al numerador de la fórmula general que representa la ley de Wilhelmy:

$$K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a + x}{a - x}.$$

Experimentalmente, para el caso de la acción de la sucrasa, de los trabajos de Achalme y Bresson se deduce que para débiles diluiciones, la inversión de la sacarosa sigue la ley de las masas; que a diluiciones medias, sigue la ley de Duclaux y que para fuertes concentraciones, la velocidad de inversión disminuye a medida que la concentración aumenta.

Trabajos de Duclaux.

Duclaux en 1898, trata de establecer una teoría general partiendo del siguiente hecho de observación: la energía hidrolizante de una diastasa, es entre ciertos límites, disminuida por la presencia de la masa sobre que actúa o sea que los productos de la reacción, ejercen una acción retardatriz, de manera que la energía diastásica, es inversamente proporcional a la cantidad de materia a transformar en presencia.

Representando por $d\,s$ la cantidad de azúcar transformado (caso de la sucrasa), este valor, será inversamente proporcional a la cantidad inicial de azúcar S y directamente proporcional, al peso P de diastasa, a la cantidad de azúcar restante $(S - s)$ y al tiempo $d\,t$, y tendremos:

$$d\,s = K \frac{P}{S} (S - s)\, d\,t.$$

fórmula en la cual, la relación $\frac{P}{S}$, representa la diastasa activa

y K una constante, que varia con la temperatura y de la que se deduce, que la velocidad de la hidrolisis en el tiempo t, será:

$$V_t = \frac{ds}{dt} = K \frac{P}{S} (S - s)$$

ecuación que demuestra que en su origen, la velocidad diastásica $V_0 = K P$ es constante, e independiente del peso de la materia a transformar.

Henri[40] modifica la ley de Duclaux, introduciendo dos coeficientes, m n cuyos valores dependen principalmente, de la temperatura y que poniéndola de acuerdo con la ley de las masas, representa mejor las irregularidades de los fenómenos diastásicos, representando la velocidad de la hidrolisis por la fórmula: Trabajos de Henri.

$$V_t = \frac{K P (S - s)}{1 + m (S - s) + n s}$$

en la que considerando la velocidad inicial, será:

$$V_0 = \frac{K P S}{1 + m S}$$

que para fuertes o pequeñas concentraciones, se tiene respectivamente:

$$V_0 = \frac{K P}{m} \qquad V_0 = K P S$$

fórmulas que representan, la primera la ley de Duclaux, y la segunda, la de Wilhelmy; es decir, que Henri, ha logrado conciliar las dos leyes.

Los trabajos experimentales de Henri, se refieren a la inversión de la sacarosa por la sucrasa; a la hidrolisis de la salicina por la emulsina, la del almidón por la amilasa, y la de la maltasa sobre la maltosa. Aparte de estos trabajos, Nicloux ha podido comprobar esta ley[41] en el caso de la lipasa, realizando sobre las grasas su acción saponificadora.

Como consecuencia de estos y otros muchos trabajos realizados, la acción de las diastasas se rige por una ley logaritmica, expresada por la igualdad: Ley logaritmica.

$$t = \frac{s}{m} L \frac{S}{S - s}$$

en la que t, representa la duración de la acción diastásica; S la cantidad total de materia a transformar; s, la cantidad ya transformada y m, un factor proporcional a la cantidad de diastasa en presencia.

La ley de las masas se cumple en el caso de la catalasa.

Relacionando la velocidad de la acción diastásica, con la concentración de la materia que se transforma, entre todas las diastasas estudiadas, la *catalasa* es la que sigue con más exactitud la ley de la acción de las masas; las otras diastasas, se aproximan en su acción a esta ley, en disoluciones diluídas, pero en medios más concentrados, la cantidad de materia transformada, es menor que la que se transformaría si la ley se cumpliera rigurosamente.

La catalasa, en efecto, cataliza la descomposición del agua oxigenada, cumpliendo por la velocidad de esta reacción, la ley de las masas, y tiene mucha importancia, investigar por qué en este caso sí y en otros no, esta ley se cumple; qué factor modifica la velocidad de las reacciones diastásicas, que no actúa sobre la descomposición del agua oxigenada.

Influencia de la viscosidad.

Según los trabajos de Buchböck [42] y Pissarjewski [43], existe una relación entre la velocidad de las reacciones químicas y la viscosidad del medio en que se realizan, pero sin que hasta ahora se haya llegado a establecer, una relación sencilla entre esas dos variables. El agua oxigenada, cuya descomposición por la acción de la catalasa, se realiza en las condiciones de velocidad de cualquier reacción química, constituye un medio, cuya viscosidad es sensiblemente la del agua ordinaria, mientras que los medios en que las acciones diastásicas se realizan, más si estos medios son materia viva, poseen una viscosidad, generalmente muy elevada, y es posible que sea este factor físico, el que trastorna la velocidad de la acción diastásica, diferenciándolo en cuanto a su valor y para la mayoría de los casos, de la velocidad de las reacciones químicas ordinarias, porque no cumple la ley de las masas.

Trabajos de Achalme y Bresson.

Achalme y Bresson han realizado diversos trabajos de investigación [44] para deducir la influencia que las variaciones de viscosidad del medio, ejercen sobre la velocidad de reacción química provocada por la diastasa y concluyen afirmando, que no hay que hacer intervenir acción vital alguna en el fenómeno

y las diferencias que se observan, por ejemplo entre el caso de la acción de los ácidos y de las diastasas (fenómenos de inversión), se deben, a que en los dos casos varía la naturaleza del medio, que es homogéneo en el caso de los ácidos y microheterogéneo, en el de los metales coloidales y diastasas.

El movimiento browniano en la acción catalítica.

La intervención de la viscosidad, trae como consecuencia la idea de modificación de un movimiento molecular o browniano y al estudiar este, ya hemos citado con las fórmulas de Einstein, las variaciones que la viscosidad del medio, producen en la velocidad con que las partículas dispersas se agitan con este movimiento. El movimiento molecular de un ion en su medio de dispersión, será mucho menos influenciado por variaciones de viscosidad del medio, que el movimiento de una micela, partícula de grado coloidal, de masa mucho mayor que la del ion. Los estudios hechos para relacionar las variaciones de velocidad del medio con la velocidad de los fenómenos diastásicos, tienden a unificar los fenómenos de catalisis química ordinaria, con las acciones diastásicas y aplicando entonces la ley de las masas a fenómenos vitales, pierden estos ese carácter de excepción que algunos les atribuyen.

Por otra parte, los trabajos citados, juntamente con los de Bredig y Toletow [45] sobre este mismo asunto, confirman la disminución de velocidad en las reacciones vitales, por aumento de viscosidad, de donde se deduce la vejez y la muerte natural de los organismos pluricelulares, según las ideas que al tratar de las propiedades de la fase dispersa (V. pág. 229) hemos expuesto. Además, el relacionar de algún modo la actividad diastásica con la intensidad de la agitación molecular, ofrece una orientación, para el estudio del mecanismo de la acción diastásica.

Propiedades vitales de las diastasas.

Las diastasas, tienen algunas propiedades de la materia viva, aunque se diferencian de ésta, porque no tienen la propiedad de nutrirse y de reproducirse, caracteres estos, que los posee la materia viva cuando se individualiza y toma forma de célula, individualidad que pierde con su carácter de elemento figurado, cuando se opera como Buchner, en la experiencia ya citada.

La muralla de separación entre la materia viva y la materia inerte, que tratan de establecer los partidarios de las doctrinas vitalistas, no puede colocarse entre los elementos figurados y

las diastasas; porque estas presentan con la materia viva tales relaciones de semejanza, qué la solución de continuidad no parece establecida.

Entre los catalizadores minerales, existe un grupo de cuerpos que nós interesa particularmente considerar ahora; el de los coloides metálicos, que aun cuando deben considerarse como materia inerte, presentan una serie de propiedades, que establecen relaciones de semejanza entre estos cuerpos, las diastasas y la materia viva.

Los metales muy divididos como catalizadores.

A medida que los metales se dividen en más pequeños fragmentos, aparece en ellos una acción catalítica, cuya intensidad aumenta en general con el grado de división. La esponja de platino, cataliza en el sistema hidrógeno oxígeno, pero si el platino en ese estado, se mezcla con arcilla y se amasa una esfera, la acción catalítica disminuye tanto, que la combinación de estos dos gases, se realiza sin explosión. El niquel, muy dividido, cataliza a la temperatura de 250° una mezcla de hidrógeno y óxido de carbono, produciendo agua y metano:

$$3H_2 + CO = CH_4 + H_2O.$$

Esta reacción y con ella otras muchas que guardan por el catalizador, algunas relaciones de analogía, se conocen principalmente, por los trabajos de Sabatier y Senderens. El platino, el cobre, el hierro, muy divididos, provocan fenómenos de catalisis, por los cuales el hidrógeno, se fija en la molécula de acetileno o en la de bencina, para producir respectivamente, el etano o el cicloexano.

Cuerpos no metálicos, como el anhidrido silícico a grado conveniente de división, el fósforo rojo, etc., catalizan muy diversos sistemas; por ejemplo, el fósforo rojo separa de los alcoholes los elementos del agua, transformándoles a la temperatura de 200° a 240°, en los carburos etilénicos correspondientes[46].

La aplicación de catalizadores de este género, ha proporcionado metodos de síntesis, muy importantes en los Laboratorios y fuera de ellos; en la práctica industrial, han encontrado también útiles aplicaciones.

Estas acciones catalíticas que los cuerpos en estado de gran

división producen, se realizan también, cuando los cuerpos adquieren el elevado grado de dispersión que caracteriza el sistema coloidal, por lo que los dispersoides metálicos, por ejemplo, presentan propiedades catalíticas. Bredig estudió la descomposición catalítica del agua oxigenada por el platino coloidal[47], encontrando que esta acción catalítica, se modifica por la acción del hidróxido de sodio por ejemplo, de modo análogo a como por esta misma causa, se modifican las acciones diastásicas. Por la acción catalítica de algunos de estos coloides metálicos, se oxida el alcohol etílico, transformándose en ácido acético, transformación análoga en esta finalidad, al trabajo bioquímico de las bacterias acéticas. El hidrosol de platino, conteniendo un gramo de metal disperso en 300.000 litros de agua, todavía ejerce su acción catalítica sobre el agua oxigenada.

Fermentos metálicos.

Los coloides metálicos, actuando como catalizadores, modifican su acción por variaciones de temperatura, de tal modo, que les corresponde como a las diastasas, una temperatura óptima, a partir de la cual, su actividad como catalizadores disminuye, paralizándose por completo, a temperaturas próximas a las de ebullición, sin que al volver a la temperatura ambiente, recuperen su acción catalítica; es decir, que por semejanza, puede decirse que como el elemento figurado, la diastasa y el metal coloidal, mueren por la acción del calor a cierto límite, pero por enfriamiento, la actividad disminuye, para recuperarla, cuando vuelve el sistema a las condiciones ordinarias de temperatura, como ocurre en los elementos figurados (V. pag. 114) y con las diastasas.

Acción del calor sobre los hidrosoles metálicos.

Paraliza la acción catalítica de los metales coloidales, la presencia de muy pequeñas cantidades de algunos cuerpos, que por obrar de este modo, les denominó Bredig «venenos del catalizador», por ejemplo, el ácido sulfhídrico o el cianhídrico, el fenol ordinario, el cloruro mercúrico, etc., intoxica a los coloides metálicos, paralizando su acción catalítica, de modo análogo, a como intoxica a los elementos figurados o a las diastasas.

Venenos del catalizador.

Por sus acciones catalíticas, los metales coloidales ejercen verdaderas acciones diastásicas, como por ejemplo, inversión de la sacarosa y por este carácter, se consideran en los hidrosoles metálicos, propiedades fisiológicas, porque obran como oxidasas

Propiedades fisiológicas de los hidrosoles metálicos.

en las reacciones que se verifican en los organismos, de donde se deriva el poder bactericida que se reconoce en los hidrosoles de plata (electrargol), en el mercurio coloidal eléctrico, etc., constituyendo el uso de los hidrosoles metálicos, un método terapéutico de gran importancia, que representa una aplicación fisiológica, de efectos catalíticos en medios heterogéneos.

Los hidrosoles metálicos como catalizadores bioquímicos.

Resulta, pues, que las disoluciones coloidales metálicas, son como las diastasas catalizadores bioquímicos y que entre unos y otras, existen importantes analogías de propiedades, que fueron puestas de manifiesto por A. Robin y así nos vamos alejando de la materia viva, sin encontrar una barrera de separación con la materia inerte, habiendo llegado a hidrosoles metálicos y quedando abierto el camino para continuar con el estudio de la catalisis producida por diversos cuerpos, a conveniente grado de división, siguiendo los trabajos de Sabatier y de Senderens.

Según las ideas de Bardet, la intensidad de las acciones catalíticas de las disoluciones coloidales metálicas, están unidas a la *vitalidad* de sus micelas que se relaciona con la intensidad del movimiento browniano: sobre la causa a que pueda atribuirse la actividad catalítica de las micelas, hay diversas hipótesis, pero el hecho de que varíe por la presencia de una traza de álcali o de ácido, hace pensar, en sí como la electrización de la micela, será debida a un fenómeno consecutivo de la ionización, pero por este camino vamos a suponer, que todos estos catalizadores, obran más que como substancias químicas determinadas, porque sobre ellas actúa una fuerza independiente del cuerpo, que le sirve de *substractum*.

Dónde reside el poder catalítico de las diastasas.

Para seguir adelante en el estudio de las diastasas, vamos a estudiar, dónde reside su poder catalítico, en qué agrupación atómica de las que las forman, se monopoliza esta acción, en una palabra, de qué depende la intensidad de su acción como catalizador, que es en definitiva su acción bioquímica, y por este camino hemos de llegar a simplificar más la cuestión.

La presencia en las diastasas de elementos minerales que hasta hace muy poco se consideraban *como impurezas*, desempeña en las acciones diastásicas un papel principal, pues muchos atribuyen y para algunos casos se ha demostrado, la acción catalítica, a esas pequeñas impurezas, reconociendo que

las diastasas son inertes, en ausencia de esas substancias que aparecen en proporciones pequeñísimas.

Si por un medio cualquiera, precipitamos y separamos de la diastasa que produce la coagulación de la fibrina de la sangre, una pequeñísima cantidad de calcio que la acompaña, la diastasa pierde sus propiedades coagulantes; la pepsina no actúa, sino en presencia del ácido clorhídrico; la fermentación alcohólica de la glucosa se activa, por adición de una traza de fosfato ácido (el de amonio es preferible), propiedad que Harden y Yung atribuyen a una combinación lipoidea del ácido fosfórico con los azúcares: si a un caldo en fermentación alcohólica, se le añade jugo de levadura hervido, es decir, con sus diastasas destruídas, la velocidad de la fermentación aumenta, pero si por dialisis, quitamos previamente a este jugo sus materias minerales, no altera la marcha del fenómeno. Todos estos hechos de observación, pueden servir para poner en evidencia la influencia en las acciones diastásicas, de las materias minerales que acompañan a las diastasas. Hechos de observación.

De qué manera la presencia de esas pequeñas masas activa la acción diastásica, no puede tener una explicación general, pues para cada caso las condiciones químicas del medio varían; en el caso de la pepsina, Bertrand[48] explica el fenómeno del modo siguiente: partiendo del hecho experimental de que la pepsina en presencia del ácido clorhídrico, realiza en algunas horas, sobre las fibrinas, por ejemplo, la acción que el ácido clorhídrico al 2 por 1.000 realiza en semanas o en meses, y si el ácido clorhídrico actúa a mayor concentración, su acción hidrolítica es mucho más rápida, supone, que la pepsina es un activador de la acción hidrolizante del ácido clorhídrico, y el mecanismo de esta activación lo explica, de acuerdo con la ley de las masas, suponiendo que la pepsina, dotada de afinidades electivas para las moléculas de ácido clorhídrico y para las de materias nitrogenadas, aproxima estas dos clases de moléculas, aumentando así concentración y por consecuencia la velocidad de la reacción. La pepsina, según estas ideas, hace posible la hidrolisis rápida de albuminoides por el ácido clorhídrico, aumentando en puntos determinados y sucesivamente, la concentración en este cuerpo, sin que el ácido se encuentre en el con- Acción de la pepsina.

junto de la masa, a la concentración necesaria para alcanzar por sí sólo esta velocidad; la concentración clorhídrica, para lograr en igual tiempo la hidrolisis de que se trata, es incompatible con la integridad de los tejidos en presencia.

Interviene la materia mineral.

Uno de los aspectos, quizá el más interesante del estudio de las diastasas, se refiere a demostrar, que su acción puede ser en último término reducida a la intervención de una pequeñísima cantidad de una materia mineral, y en este aspecto considerada la cuestión, es como mejor se llega a conocer el mecanismo íntimo de la acción diastásica. De todos los trabajos hechos con esta orientación, son indudablemente los de mayor valor científico, los realizados por G. Bertrand sobre una oxidasa que se denomina lacasa, y a ellos vamos a referirnos, documentándolos convenientemente, porque ellos han sugerido nuestras investigaciones sobre la asimilación del nitrógeno del aire por las tierras y por las plantas, por vía bacteriana, trabajos con los que terminaremos este Capítulo.

Las oxidasas.

Las diastasas fueron durante mucho tiempo consideradas como cuerpos que solamente actuaban hidrolizando, mientras que otros muchos tipos de reacciones químicas que se verifican en los organismos, las de oxidación, por ejemplo, se atribuían exclusivamente a la energía vital sin intervención de acción diastásica alguna [49], pero el químico japonés Hikorokuro Yoshida, demostró que tampoco en este caso la llamada energía vital tiene realidad, pues esas reacciones de oxidación, se verifican [50] por la acción de unas diastasas de oxidación, que se denominan *oxidasas*, cuyos caracteres son de verdaderos agentes de oxidación, fijando oxígeno sobre determinados cuerpos. Se conocen varias diastasas de este grupo y se extraen de los cuerpos que las contienen, por los métodos generales empleados para la extracción de los fermentos solubles hidrolizantes.

No tiene interés para nuestro objeto estudiar cada una de estas oxidasas, que aparecen muy repartidas en todos los organismos, donde realizan importantes acciones bioquímicas; basta referirnos a una de ellas, a la primera cuya existencia demostró Yoshida, estudiando con algún detalle su modo de acción.

Estudio de la lacasa.

El árbol de la laca *Rhus vernicifera*, produce un jugo lechoso, claro, de aspecto y consistencia semejante a la miel, que en con-

tacto con el aire, se transforma en un barniz negro, que los japoneses y los chinos, utilizan para decorar muebles y otros objetos y que denominan *laca*. El estudio de este fenómeno fué hecho por Yoshida, quien admitió en el latex, la existencia del ácido urúsquico ($C_{14} H_{19} O_2$), que por oxidación se transforma en ácido oxiurúsquico:

$$4\ C_{14} H_{19} O_2 + 3\ O_2 = 4\ C_{14} H_{18} O_3 + H_2 O$$

y también, consiguió extraer de este latex, una substancia blanca, insoluble en el alcohol, sin la cual, no se forma la laca, pero restituyendo al latex el cuerpo separado, recupera la propiedad de convertirse en barniz negro, hecho experimental éste, por el que, Yoshida, deduce que la formación del barniz, es consecuencia de una acción diastásica y que la diastasa, es el cuerpo insoluble en el alcohol que había separado.

Trabajos de Bertrand

Diluyendo el latex en una gran cantidad de alcohol, encontró Bertrand[51] dos productos, el uno que se precipita y el otro que queda disuelto en el líquido. El cuerpo precipitado, lavado en alcohol, disuelto después en agua y vuelto a precipitar, repitiendo esta operación varias veces para obtenerlo en estado de pureza, tiene propiedades diastásicas, es una oxidasa a la que se denomina *lacasa*. El cuerpo que quedó en disolución alcohólica, se separa por destilación rápida al vacío, se le trata por agua, después por éter y evaporados los disolventes, queda como residuo un líquido aceitoso que es el *lacol*, cuerpo que por la acción del cloruro férrico y del acetato de plomo, da lugar a reacciones semejantes a la que estos cuerpos producen sobre los polifenoles, por lo cual, Bertrand utilizó polifenoles, para estudiar los fenómenos de oxidación de la *lacasa*, con la ventaja, de operar sobre cuerpos de constitución química conocida, mientras no se conoce de modo suficientemente preciso, la constitución química del lacol.

El paradifenol (hidroquinona) por la acción de la lacasa, se oxida en contacto del aire, produciendo agua y quinona:

$$2\ C_6 H_4 (OH)_2 + O_2 = 2 H_2 O + 2\ C_6 H_4 O_2$$

y más interés que ésta, tiene la oxidación del pirogallol por la lacasa, porque en este caso, al oxígeno fijado por la acción oxi-

dante, corresponde un desprendimiento de gas carbónico, con formación de purpurogalina:

$$4\,C_6H_6O_3 + 9\,O = C_{20}H_{16}O_9 + 4\,CO_2 + 4\,H_2O$$

de manera análoga, cuando por la acción de esta diastasa, se oxida el ácido gálico y el tanino, también se desprende gas carbónico, por lo cual, estos casos de oxidación, pueden considerarse como acciones diastásicas, que guardan estrecha relación con los fenómenos bioquímicos, consecutivos a la respiración.

Los trabajos de Bertrand sobre la lacasa, continuaron, analizando varias muestras de esta oxidasa, en la que encontró hasta el 5,15 por 100 de cenizas, que por el análisis, comprobó que eran ricas en manganeso, pero conteniendo de este cuerpo cantidades variables de 0,098 a 0,159 por 100 y estudiando la oxidación de la hidroquinona con diferentes muestras de oxidasa que contenían distinta cantidad de manganeso, pudo comprobar, que la velocidad de la oxidación era mayor, en aquéllas que contenían mayor cantidad de manganeso, y estos resultados sugieren a Bertrand la idea[52], de que el principio activo de la lacasa, era el manganeso.

Materias que se complementan.

Esta hipótesis, fue comprobada por su autor experimentalmente, no quitando el manganeso de la lacasa, para observar si por ello perdía su poder diastásico, pues esta operación no fué posible, porque la materia orgánica se transforma profundamente por la acción del reactivo empleado para precipitar el metal; pero sí fué factible, extraer una muestra de lacasa muy pobre en manganeso, a la que añadió manganeso, comprobando después que la acción oxidante de la lacasa asociada al manganeso era considerable. Comparativamente con la experiencia anterior, realizó otras, en las que utilizó como catalizador, o lacasa pobre en manganeso, o sales de manganeso, y en los dos casos, el oxígeno absorbido por la hidroquinona, fué unas veinticinco veces menor que el absorbido por el sistema, cuyo catalizador era lacasa, asociada al manganeso, de donde se deduce, que la acción catalítica, no se debe ni al manganeso ni a la materia orgánica, sino a la asociación de los dos cuerpos: estas dos substancias se complementan la una a la otra y Bertrand deno-

mina al manganeso *complementario activo* y a la materia orgánica que le sirve de soporte, *complementaria activante.*

Complementos activo y activante.

La complementaria activa, es diferente, según los casos de que se trate: está constituída por un ácido (pepsina, amilasa, sucrasa), o por el manganeso (lacasa), o por el calcio (diastasas coagulantes de la sangre o de la leche), o por el cloruro de sodio (diastasas proteolíticas de los vegetales), etc., la complementaria activante, es una materia de constitución química muy compleja, generalmente análoga a las albúminas y muy alterable por la acción del calor.

Interesa que detallemos un poco la interpretación de estos fenómenos, porque se puede llegar a reducir a propiedades de la materia mineral, las de las diastasas, y siendo en los fenómenos de vida tan importantes las acciones diastásicas, este estudio abre camino para estudiar algunas propiedades de la materia viva, que pueden reducirse a propiedades generales de la materia.

Poder oxidante de las sales de manganeso.

Determinado por Bertrand[53] el poder oxidante de las diversas sales de manganeso, actuando sobre la hidroquinona, encontró que la acción oxidante aumenta, cuanto menos enérgico es el ácido que con el metal esté combinado; las sales orgánicas de gran peso molecular, fijan en la hidroquinona, por ejemplo, el sucinato, una cantidad de oxígeno quince veces mayor que el nitrato o sulfato de manganeso. Para llegar a interpretar el hecho de que por influencia de la lacasa asociada al manganeso se puede catalíticamente fijar una cantidad teóricamente indefinida de oxígeno, establece una serie de reacciones, en las que parte de una sal de manganeso RMn, que por hidrolisis se transforma con tanta más velocidad, cuanto más débil sea el ácido del modo siguiente:

$$RMn + H_2O = RH_2 + MnO,$$

es decir, en un ácido RH_2 y un protóxido MnO tan oxidable, que en presencia del oxígeno molecular del aire O_2, se transforma en bióxido:

$$MnO + O_2 = MnO_2 + O$$

la molécula de oxígeno O_2, se fracciona en átomos de oxígeno activo, de los cuales, la mitad, actuan sobre la materia orgánica

oxidable y la oxidan, mientras que el bióxido de manganeso formado, en presencia del ácido RH_2 que en la primera fase se formó, reacciona:

$$RH_2 + MnO_2 = RMn + H_2O + O$$

regenerando la sal de manganeso de que se partió, que una vez formada, inicia de nuevo el ciclo de sus transformaciones, y quedando además disponible para la oxidación en forma de oxígeno atómico o activo, la otra mitad del oxígeno del aire que intervino a la segunda fase de la reacción, y que temporalmente fué retenido por el manganeso, para formar MnO_2.

Según esta interpretación, cuya exactitud ha sido experimentalmente demostrada, una pequeña y limitada cantidad de sal de manganeso, puede, en contacto del oxígeno molecular, oxidar una masa teóricamente ilimitada de materia orgánica oxidable.

Cómo pueden considerarse constituídas las oxidasas.

Como consecuencia de todos estos trabajos, se consideran las oxidasas, como combinaciones del manganeso con un radical ácido, probablemente de naturaleza proteica, tan débil, que sólo tiene como ácido, la energía precisa para poder sostener el metal en estado de disolución, pero formando un compuesto tan hidrolizable, que su acción oxidante es, según la experiencia, 3.500 veces mayor que la del sucinato de manganeso, al que para compararlo con el nitrato, nos hemos referido antes; queda reducido, según estas ideas, a un simple soporte del catalizador bioquímico, el papel de las moléculas orgánicas que le constituyen, y es el metal o metales, la parte activa. Gaube, dentro de estas ideas afirma, que la energía diastásica, es función de su esqueleto mineral.

Influencia de la variación del medio.

Habiendo llegado al concepto de complementario activo de las diastasas, y sabiendo que las acciones diastásicas se encuentran como causa de multitud de fenómenos vitales, puede comprenderse por qué todos estos fenómenos, son tributarios de las condiciones del medio en que se realizan, y por qué una pequeña variación, que conceptuada con criterio rigurosamente químico, no debe ejercer acción eficaz sobre el sistema, la ejerce y muy intensa, porque puede modificar profundamente, la función activa del fenómeno diastásico. Una pequeña variación de acidez o de alcalinidad del medio, hace variar la velocidad de la acción

diastásica, si actúa eficazmente sobre la pequeñísima masa de complemento activo al que Bertrand denomina, *infinitamente pequeño químico.*

El mecanismo de la catalisis bioquímica, puede estudiarse interpretando la acción de los infinitamente pequeños químicos, que pueden ser átomos, radicales, iones o grupos funcionales, que entre las transformaciones físico-químicas que sufren cuando actúan, se cuenta la de encontrarse en estado naciente, es decir, desprovistos de inercia química y en condiciones de satisfacer inmediatamente sus valencias: un ion que pierde su carga eléctrica, será una muy pequeña fracción material, dotada en aquel momento de una actividad química extraordinaria. Los infinitamente pequeños químicos.

El concepto de ácido enérgico o de base enérgica que hoy se sostiene, está íntimamente relacionado con el grado de ionización de esos cuerpos, de modo que es más enérgico, el ácido que al disolverse forma más $H^{\cdot}$ y más enérgica, la base que en análogas circustancias, produce más OH'. Ostwald compara la enérgica de los ácidos con su poder catalítico, y encuentra para estos dos fenómenos una completa correlación, de tal modo, que el ácido más enérgico, es el de mayor poder catalítico, luego no es la especificidad del ácido, sino la cantidad de iones $H^{\cdot}$ en presencia, lo que determina, tanto la acción química de neutralización, como la acción catalítica, por ejemplo, de saponificación.

Estudiado según este criterio el fenómeno de la inversión de la sacarosa, se deduce que la velocidad de inversión varía para el caso de ácidos fuertes, de modo inverso a como varía en la concentración el número de iones, y Arrhenius, para explicar esta contradicción, supone que la presencia de otros iones (los negativos), modifican la actividad catalítica del $H^{\cdot}$.

ACCIONES DIASTÁSICAS POR LAS CUALES ASIMILAN LAS PLANTAS EL NITRÓGENO ATMOSFÉRICO

En los organismos vegetales, los componentes plásticos, o sean el carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, calcio, magnesio y hierro, considerados en conjunto, forman el 99,9 por 100 del peso total del vegetal, y el 0,1 por Componentes de los vegetales.

mo menor que la que de ella se extrae. Parece lógico suponer, que la tierra se irá progresivamente empobreciendo en nitrógeno, y sin embargo, repetidos análisis demuestran, que la cantidad de nitrógeno que estas tierras poseen, disponible para las necesidades de la vida de las plantas, no varía sensiblemente en el transcurso del año, pues si bien es cierto que en algunas épocas disminuye, también lo es que en otras aumenta, a pesar de los arrastres de nitrógeno nítrico realizados por las aguas y de las acciones desnitrificantes que de un modo contínuo, realizan multitud de bacterias, que en su trabajo bioquímico, descomponen la materia nitrogenada, produciendo nitrógeno libre que vuelve a la atmósfera.

La cantidad de nitrógeno, que en muy diversas formas se recoge en las cosechas, es siempre mucho mayor que la diferencia entre el nitrógeno total que poseía la tierra antes de la siembra y el que resta después de la recolección; si la planta cultivada pertenece al grupo de las leguminosas, se observa que la riqueza en nitrógeno de la tierra, después de hecha la recolección, es bastante mayor de la que poseía antes de la siembra, y este hecho experimental, se utiliza en la práctica agrícola, para establecer la rotación de cultivos.

De dónde procede el nitrógeno que asimilan las plantas.

Como la más sencilla e inmediata solución del problema, ocurre pensar, que el *superavit* de nitrógeno a que en los anteriores hechos de observación nos hemos referido, procede del amoníaco puesto en libertad por fermentación amoniacal de las materias nitrogenadas y de los compuestos oxigenados del nitrógeno, que se forman en el aire, por influencia de la energía eléctrica y que oxidados después, reaccionan con el agua formando ácidos nitroso y nítrico que las aguas de lluvia incorporan a las tierras, en forma, principalmente, de nitrato amónico. Por determinaciones analíticas, se asigna un promedio de 6 a 7 kilogramos de nitrógeno, expresado en nitrógeno nítrico, la cantidad total que de esta procedencia se incorpora a la tierra por año y hectárea y aun siendo esta cantidad ridícula, con relación al que se saca de la tierra por las cosechas, hay que advertir que la acción desnitrificante de algunas bacterias de putrefacción y la de los microorganismos propios de la desnitrificación, dejan en libertad para volver a la atmósfera, una

cantidad de nitrógeno, mayor que la aportada a la tierra por la causa dicha.

¿De dónde procede el nitrógeno que asimilan las plantas? El vegetal vive en una atmósfera muy rica en nitrógeno, pues de este gas contiene el aire próximamente cuatro quintas partes de su peso, pero el vegetal, no asimila el nitrógeno libre de la atmósfera; con sus materias hidrocarbonadas procedentes de su función clorofílica, y el nitrógeno, el vegetal no puede elaborar los materiales nitrogenados que necesita para su vida, y rodeado de nitrógeno, pudiera morir por hambre de nitrógeno, si otras acciones microbianas y por lo tanto diastásicas, no sirvieran de verdaderos intermediarios por los cuales, el nitrógeno del aire es fijado en las tierras en concurrencia con los hidratos de carbono (celulosa y otros), en forma orgánica, transformado después en nitrógeno nítrico (fermentación nítrica) y después asimilado por la planta; este es el caso general; en el de las leguminosas, la asimilación se verifica más directamente.

He aquí un objeto de investigación muy importante: el de estudiar los micro-organismos fijadores del nitrógeno del aire en las tierras y en las plantas, con el objeto de conocer por sus acciones diastásicas, cual o cuales pueden ser los cuerpos que obrando de modo análogo a como el manganeso obra en la lacasa, sean capaces de incrementar la acción catalítica correspondiente, obteniéndose como consecuencia, una mayor cantidad de nitrógeno disponible para las necesidades de la planta.

Abonos nitrogenados.

El incrementar en las tierras la cantidad de nitrógeno disponible para la planta, es asunto que hoy se resuelve, añadiendo a las tierras abono nitrogenado, en forma de nitrato de sodio (nitratos de Chile), o de calcio (nitratos sintéticos), o sulfato amónico (procedente de la destilación de la hulla), o amoniaco producido por la cianamida calcica o por síntesis. El consumo mundial de estos productos en la práctica agrícola, es enorme, representando un valor de más de cien millones de pesetas por año.

Solución técnica del problema.

Como los yacimientos de salitre son limitados, y su explotación cada año más intensa amenaza agotarlos; como por otra parte, la primera materia que al destilar las hullas se obtiene, para fabricar las sales amónicas, es muy limitada, el esfuerzo

del hombre se ha dirigido en estos últimos años, a encontrar reacciones químicas, que pudieran servir como intermediarias, para que el nitrógeno del aire, pudiera ser aprovechado por las plantas y las fabricaciones de cianamida cálcica, y más que esto, la de los nitratos sintéticos, comenzada en Noruega y muy extendida ya por Europa, tratan de resolver el problema de llevar a las tierras nitrógeno amoniacal (caso de la cianamida) que luego por la nitrificación se transforma en nitrógeno nítrico, o bien (caso de los nitratos de calcio sintéticos), en nitrógeno nítrico en condiciones de intervenir directamente en la asimilación del vegetal.

La fabricación de estos productos químicos tiene una gran importancia económica y social, pues son vehículos que transportan el nitrógeno del aire hasta la planta, colocándole en condiciones de asimilación, pero nos parece más *racional, más sencillo y más económico, excitar como sea posible el mecanismo de la catalisis bioquímica, por el cual se realiza en la Naturaleza la asimilación del nitrógeno del aire por las plantas, aumentando la velocidad de la reacción bioquímica por la virtud de la cual, se fija en las tierras o en las plantas el nitrógeno del aire.* Por otra parte la fabricación del amoníaco por sístesis, de la cianamida o de nitratos sintéticos, ha resuelto técnicamente, el problema del posible agotamiento de los yacimientos de nitratos, pero no es una solución económica al problema de la necesidad de abonos nitrogenados, porque la obtención de esos productos, y por lo tanto su precio en venta, es muy elevado, por el coste de la energía eléctrica que en gran cantidad precisa para esas fabricaciones. Asi que, la solución encontrada, es buena en su aspecto técnico, pero no es suficiente en el aspecto económico, que es el de más importancia.

Solución técnica y económica.

Es indudable, que entre todos los medios de fijación del nitrógeno atmosférico en las tierras y en las plantas, es el microbiano el que ocupa el primer lugar, en orden de cantidad de nitrógeno incorporado, representando la flora bacteriana del suelo, el principal agente de asimilación de la materia nitrogenada. Si se realizan cultivos en tierras muy bien abonadas, pero esterilizadas, los rendimientos son escasos y ya se admite como buen principio agronómico, que la fertilidad de los suelos, depende en

La fertilidad de los suelos.

gran parte de cantidad y calidad de los microorganismos que contiene, más que de los abonos minerales o de los constituyentes químicos del estiércol que se añade. La evidente utilidad de la adición de estiércol a las tierras, se deriva no tanto de sus componentes químicos como de su extraordinaria riqueza microbiana, pues un gramo de estiércol, contiene hasta 70.000.000 de gérmenes; esta afirmación, ha sido experimentalmente comprobada por Stoklasa, comparando las cosechas obtenidas, en parcelas abonadas con estiércol esterilizado o sin esterilizar.

La tierra no es un soporte inerte.

La tierra es el receptáculo a donde va a parar la materia orgánica que los seres vivos elaboran: las especies químicas que forman esta materia, deben sufrir las transformaciones convenientes, para que nuevamente los elementos químicos que las constituyen, queden en disposición de ser incorporados a otros organismos y para que esta ley de evolución se cumpla, en la tierra se encuentran las condiciones de temperatura, de humedad y de composición de medio, que son necesarias para que esa evolución se verifique. La tierra de labor, no es un soporte inerte de las plantas; es el lugar donde se manifiesta una actividad vital, verdaderamente extraordinaria.

Las aguas y el aire, contienen también microorganismos, pero en número y variedad, mucho menor que los que posee la tierra, porque existe una variada serie de acciones, principalmente físicas, que por lo general a las tierras no alcanzan, que los destruye; sin embargo, los microorganismos del aire y del agua, han sido más estudiados que los de las tierras, porque entre ellos figuran la mayoría de los microbios patógenos, cuyas condiciones de vida interesa conocer al hombre, para defender su propia salud.

Análisis bacteriológico de las tierras.

El análisis bacteriológico de las tierras, da idea de la importancia del estudio de la flora bacteriana del suelo. Refiriéndonos a nuestros propios trabajos, para no hacer demasiado prolija la documentación de este asunto, citamos el resultado que obtuvimos del análisis de tierra en unas muestras tomadas a principio de Marzo, en la huerta de Zaragoza, a varias profundidades que contamos en centímetros a partir del nivel del suelo[52].

A. 0,03 m.	de profundidad	6.292.000	gérmenes.
» 0,08 m.	»	3.717.000	»
» 0,15 m.	»	2.246.000	»
» 0,25 m.	»	1.972.000	»
» 0,40 m.	»	1.292.000	»

Los números citados, dan idea de la importancia que realmente tiene el estudio de la flora microbiana del suelo y de ellos se deduce, que a partir de un máximum que se encuentra a 0,05 m. de profundidad, el número de gérmenes disminuye a a medida que se estudian capas más profundas, admitiéndose que a 3,50 m., no existe germen alguno.

Trabajo bioquímico de los microorganismos de las tierras.

El trabajo bioquímico que estos seres realizan en las tierras, es muy variado, estudiándose entre ellos, muchísimas especies, cada una de las cuales, cumple la misión específica que le corresponde. Teniendo solamente en cuenta el concepto de tierra de cultivo, interesa conocer desde este punto de vista, las bacterias de putrefacción, las peptonizantes, las desnitrificadoras, las nitrificantes, las que absorben el nitrógeno atmosférico, y las que transforman la úrea. Cada uno de estos grupos, contiene un cierto número de especies microbianas, cuyo trabajo es simultáneo, o sucesivo: algunas de estas bacterias, como las de putrefracción y las desnitrificantes, producen trabajo analítico; otras, como las fijadoras del nitrógeno, realizan trabajo sintético. De entre toda esta inmensa variedad de seres, hemos estudiado algunos de los fijadores del nitrógeno atmosférico, los cuales realizan un trabajo bioquímico, por el cual enriquecen el suelo en materias nitrogenadas, que dispuestas por otras acciones microbianas en forma conveniente, proporcionan a las plantas, alimento nitrogenado. Entre la gran variedad de especies que dentro de este grupo pueden incluirse, citamos como más importantes, el *clostridium Pasteurianum; los azotobacter, chroococum, agilis, danicus, malabarensis Beijerinckii; los Bacillus azotobacterescens y megatericum; los Amilobacter; el Bacillus radiobacter y Aerobacter aerogens.* Varía mucho el trabajo bioquímico de cada una de estas especies, así como la cantidad de nitrógeno que absorben, con las condiciones químico-físicas del medio en que viven, por lo cual para hacer con buena base el estudio de este

interesantísimo fenómeno, precisa aislar y estudiar en sus cultivos puros, cada uno de los microorganismos fijadores del nitrógeno.

La fijación del nitrógeno es de origen microbiano.

La orientación del estudio de la fijación del nitrógeno del aire por las tierras, atribuyendo la más importante acción, a la bacteriana, arranca de las ideas que Berthelot expuso en 1885, en una Memoria dirigida a la Academia de Ciencias[55], así como Hellreigel, fué el primero que hizo observar[56], que en las nudosidades de las raíces de las leguminosas, existen unos microorganismos, en estrecha relación con la nutrición de las plantas.

La demostración experimental de la eficacia de la acción microbiana, en este caso como en todos, se demuestra sin género de duda, esterilizando tierras y comparando, pasado algún tiempo, su riqueza en nitrógeno, con otras tierras no esterilizadas. La energía que utilizan estas bacterias fijadoras de nitrógeno, procede de la descomposición de los hidratos de carbono que los toman de la tierra, donde se encuentran, por consecuencia del trabajo de vegetales inferiores, musgos, y algas que los producen[57] (Kossowicz). Estas bacterias exigen además, para su desarrollo, la presencia en las tierras del ácido fosfórico, cal, magnesia y potasa.

Nuestros trabajos se refieren a dos de estas especies cuyo trabajo se realiza en las tierras, el *clostridium Pasteurianum* y el *Azotobacter chroococum*. De qué manera procedimos para aislar de las tierras de labor de estos microorganismos, y cómo realizamos su cultivo, son detalles que no interesa citar aquí, porque ya los hemos publicado,[58] describiendo minuciosamente los métodos seguidos, y a quien le interese conocer con detalle, los encontrará en las notas originales.

Las nudosidades de las raíces de las leguminosas.

En las raíces de las plantas del grupo de las leguminosas, aparecen unas nudosidades, que Malpghi consideró como resultado de fenómenos patológicos, pero que estudiadas después por varios investigadores, deducen que la propiedad que tienen estas plantas de asimilar el nitrógeno atmosférico, está en íntima relación con la presencia de estas nudosidades, que contienen microorganismos, cuya existencia es muy fácil de comprobar directamente, sin más que cortar y aplastar, una de estas nudosi-

dades en una gota de agua esterilizada, que se observa después al microscopio.

Los microorganismos que contienen estas nudosidades, no son idénticos en todos los casos, pero como no nos interesa hacer de ellos un estudio morfológico, diremos solamente que para nuestras investigaciones, hemos partido de nudosidades de trébol rojo, de las que obtuvimos en cultivo puro una raza de *Bacillus radicicola* (Beijerinck), siguiendo métodos de trabajo que no es necesario detallar aquí, porque ya los hemos publicado con todo detalle[58].

Fijadores de nitrógeno en cultivo puro.

La primera fase de nuestro trabajo, fué obtener en cultivo puro, tres especies de microorganismos fijadores del nitrógeno atmosférico; de los tres cultivos obtenidos, dos (*clostridium* y *azotobacter*), realizan su trabajo en las tierras, y el otro *(bacillus radicicola)*, vive en la misma planta, sobre la que realiza una verdadera infección.

Estos organismos realizan su trabajo sintético, tomando de la tierra o de la savia de las plantas o del caldo de cultivo, hidratos de carbono y el nitrógeno del aire atmosférico, elaborando así como producto de desasimilación bacteriana, unas masas viscosas, que flotan en el caldo de cultivo (velos) o que absorben las plantas, nutriéndose de materia nitrogenada, o que se transforma en las tierras en compuesto nitrogenado de nitrógeno nítrico, pasando antes por la forma de nitrógeno amoniacal.

Orientación de nuestros trabajos.

Para estudiar la absorción de nitrógeno que realizan estos cultivos, refiriendo su acción a una diastasa, como debe hacerse, y considerada esta como un catalizador bioquímico dentro de las ideas que en este Capítulo venimos exponiendo, interesará conocer para esta acción diastásica, su complemento activo y de este modo, podremos aumentar la cantidad de nitrógeno absorbido por nuestros cultivos. Al referirse Effront a estos microorganismos, dice[21] que no se conocen los catalizadores que intervienen en la asimilación del nitrógeno por vía bacteriana, este estudio, *es un campo de investigación, todavía inexplorado.*

Primeras experiencias.

Cultivados en cultivo puro los tres microorganismos citados, empleando como caldo un medio líquido manitado, de 60 centímetros cuadrados de superficie y 100 c. c. de masa, durante

veinte días, a la temperatura de 22°, absorben del nitrógeno atmosférico, las cantidades siguientes:

Bacillus radicicola.	0,0040 mgr. por 100.
Clostridium Pasteurianum.	0,0002 mgr. por 100.
Azotobacter chroococum.	0,0000 mgr. por 100.

Presentamos así estos resultados, para fijar la atención sobre este punto. El bacillus radicicola, obra en las condiciones de la experiencia como fijador del nitrógeno atmosférico, pero los otros no, pues en varias experiencias hemos comprobado, que la absorción en los cultivos de clostridium granula, y aun en otros casos hemos encontrado, que la cantidad de nitrógeno total, era menor después de 20 días de trabajo microbiano, que antes de la siembra. Realmente, estos resultados son dignos de llamar la atención. Tanto el *clostridium* con que operamos, como el *azotobacter*, son las especies microbianas que se reputan como de las más aptas, para la absorción del nitrógeno atmosférico, y estos resultados, explican el fracaso de los primeros trabajos de Winogradsky sobre este asunto, y visto que en cultivo puro no absorbe nitrógeno el *clostridium* y en las tierras sí, se admite que estos microbios viven en simbiosis con dos *bacillus* que designaron (Winogradsky) α y β; estos microorganismos facilitan y hacen posible el trabajo de los fijadores de nitrógeno, porque supuesto el *clostridium* anaerobio extricto, el gas carbónico que aquellas bacterias producen, protege a los fijadores de la acción del oxígeno, cuya acción, al decir de los que sobre este asunto han investigado, es perjudicial. En cuanto al *azotobacter* ya observó Beijerinck el fenómeno a que nos referimos, y estableciendo una acción análoga a la del caso anterior, dice que el *azotobacter* solo absorbe nitrógeno, cuando vive asociado al *Bac. radiobacter* o al *aerobacter aerogens*.

Interpretación de los resultados.

Pero estas explicaciones que solo por la autoridad de sus autores circulan en todas publicaciones como buenas y son de muy difícil comprobación experimental e insuficientes, para explicar el resultado de nuestras experiencias, mucho más después de haber comprobado en nuestros trabajos[58] que el *clostridium* puede multiplicarse y trabajar como fijador de nitrógeno, en condiciones de vida aerobia.

Conocidos los trabajos de Bertrand sobre la lacasa, y el hecho experimental citado por Remy y Rosing [59] de que los *azotabacter*, asimilan una mayor cantidad de nitrógeno, cuando se multiplican en un medio que contiene compuestos húmicos que están *impurificados* por el hierro, nos pareció que esta impureza, tenía análogo sentido que la *impureza* manganeso que citaron en el caso de la lacasa, como por otra parte, en la naturaleza suelen encontrarse juntas las materias complementarias, pues solo de este modo pueden realizar su misión bioquímica, pensamos que la presencia constante del hierro y del manganeso, en las tierras de labor, era una indicación precisa, para orientar nuestro trabajo en el sentido de investigar, si estos metales eran complementos de la diastasa o activadores de la reacción catalítica, por la cual el nitrógeno del aire se fija en las tierras y en las plantas, y para comprobarlo, dispusimos varias experiencias en las qué en el medio líquido que para estos cultivos empleamos (*) añadimos 0,005 gr. por 100 de $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ ó 0,005 gr. de $Mn^{\cdot\cdot}$: operando con 100 c. c. caldo y 60 cm² de superficie, estando los cultivos durante 20 días en la estufa a 22°, obtuvimos, hecha la determinación del nitrógeno total, en este caso como en todos, por el método de Kjeldahl, el resultado siguiente:

	En presencia del $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$	En presencia del $Mn^{\cdot\cdot}$
Clos. Pasteurianum, mgr. de N. absorbido %	0,006	0,005
Azot. Chroococum, mgr. de N. absorbido %	0,005	0,010

Conclusión interpretativa de los resultados obtenidos.

El resultado de estas experiencias, explica de modo concluyente por que los *clostridium* y *azotobacter* en sus cultivos puros, no fijan el nitrógeno atmosférico, y por que lo fijan y en grandes cantidades en las tierras. No es porque vivan en simbiosis con otros microorganismos, según afirmaron Winogradski y Beijerinck y todos los que sobre estos asuntos hablan y escriben, reproducen, sino porque de las diastasas que realizan la catalisis bioquímica por la cual el nitrógeno del aire se fija en las tierras, tienen al manganeso y al hierro como complementos

(*) Infusión de judías, manitada al 1 por 100.

activos, y como estos elementos existen en las tierras de cultivo, *siempre*, esos microorganismos fijan nitrógeno, y como en los caldos de cultivo no existían esos elementos, los microbios vivían y se multiplicaban, pero no realizan la acción diastásica, como ocurre en el ejemplo a que nos hemos referido para llegar al concepto de las diastasas (V. pág. 297): la levadura alcohólica vive y se multiplica sin producir fermentación alcohólica, porque las condiciones de composición química del medio en que vive (un gran exceso de oxígeno), no son las apropiadas a la acción catalítica de la zymasa alcohólica; basta en este caso variar la forma da esta masa [18] o en el caso de los fijadores de nitrógeno, añadir una disolución iónica que contenga Fe''' ó Mn'', para que en el primer cultivo, se realice la fermentación alcohólica y en el segundo, la fijación del nitrógeno atmosférico.

Iones y micelas.

Teniendo en cuenta que en las tierras, se encuentran también esos metales en forma coloidal, realizamos algunas experiencias añadiendo a los caldos de cultivo, hidrosoles de hidróxidos de hierro o de manganeso en cantidad de metal, equivalente a la que en forma de ión añadimos en las anteriores experiencias; en todos los casos, la cantidad nitrógeno fijado, era menor, cuando el complemento activo se encontraba en estado coloidal, como si el metal-ión, tuviera una acción catalítica mayor: este resultado inicia una serie de investigaciones en las que el trabajo microbiano, podría servir para comprobar la acción catalítica de un cuerpo, en relación con su grado de dispersión, pero nada concluyente podemos ahora citar sobre este asunto.

Las diastasas que producen el trabajo bioquímico de los microorganismos fijadores del nitrógeno atmosférico, no tienen, aun tratándose de una misma especie microbiana, la misma actividad, como se comprueba perfectamente en el caso de las oxidasas: la variación de intensidad de la acción catalítica, está en relación con las condiciones químicas del medio, y de aquí se deduce, una relación entre la fertilidad de las tierras y su composición química, o mejor sus componentes catalíticos (V. pág. 326).

Abonos biológicos.

Llevando a la práctica agrícola, los trabajos que en muchos laboratorios se realizan sobre este importante asunto de la fijación del nitrógeno del aire, se ha intentado resolver el problema

económico de la nutrición nitrogenada de las plantas, añadiendo a las tierras o poniendo en contacto con las semillas, cultivos más o menos puros y vigorosos, de algunas de estas bacterias nitrificantes, constituyendo los llamados genéricamente, *abonos biológicos*. Estos productos, son el resultado de la industrialización de trabajos, prematuramente sacados de los laboratorios, pues el problema, tal como lo resuelven los que se dedican a la fabricación y venta de estos productos, está, a juicio nuestro, mal resuelto, y hacemos esta afirmación, después de haber estudiado algunos de esos productos industriales y el problema de que tratamos.

Demostramos nuestras afirmaciones con este dilema: si las tierras a que se añaden los cultivos de estos microorganismos, son un medio adecuado a las exigencias de vida de estos pequeños seres, en ellas se encontrarán abundantísimos, y como su poder de multiplicación es muy grande, resulta perfectamente inútil el añadir algunos más, y si la tierra de cultivo, no posee en su flora bacteriana algunas de estas bacterias fijadoras de nitrógeno, o las contiene con poca vitalidad, ello será debido, a las malas condiciones de medio que en estas tierras encuentran, y como esto no se modifica por la adición de microorganismos, ocurrirá fatalmente, que los gérmenes añadidos, sucumbirán o arrastrarán como sus hermanos de raza, una vida desmedrada y raquítica, que no significará para la vegetación, una masa apreciable de nitrógeno disponible.

Los abonos biológicos, no resuelven a juicio nuestro el problema de facilitar a las plantas el nitrógeno necesario para su nutrición y desarrollo, estimulando el mecanismo de la serie de fenómenos bioquímicos por los cuales el nitrógeno del aire es asimilado por los vegetales.

Abonos catalíticos.

Hace ya algunos años, que se practican estudios para la aplicación de los denominados *abonos catalíticos*, entre los cuales se puede presentar como tipo, las sales de manganeso. Los primeros trabajos experimentales, sobre la aplicación a la práctica agrícola del manganeso como abono complementario, se realizaron en Italia por el Dr. I. Giglioli, de 1897 a 1904, y después en varios países, se han hecho repetidos ensayos, casi siempre con buen éxito. En España, se realizaron trabajos experimenta-

les por los señores López Peñafiel y Barcia Trelles, habiendo publicado este último, un trabajo muy documentado [60], en el que encontrará quien desee conocer con detalle este asunto, una copiosa bibliografía y una exposición metódica y muy razonada de esta interesante cuestión. Nuestro compañero el Dr. Castell, ha estudiado experimentalmente esta cuestión, publicando [61] un folleto que contiene el resultado de sus trabajos.

No vamos a citar, resultados obtenidos en prácticas agrícolas, por la aplicación de las sales de manganeso como abono catalítico; basta recordar, que los vegetales tienen necesidad de manganeso [62], y generalizando más, por lo que a los componentes denominados catalíticos de los seres vivos se refiere, afirma Bertrand que los metaloides y los metales presentes en una planta, aun en proporciones ínfimas, pueden ser elementos fisiológicos tan necesarios para el metabolismo general, como el carbono y el nitrógeno.

El manganeso como abono complementario

El éxito de la aplicación del manganeso como abono complementario, se supone debido a que el manganeso obra en los vegetales como catalizador de las variadas reacciones de oxidación que necesita el vegetal para su vida y que al estimularlas, se mejoran las condiciones vitales de la planta: el Dr. K. Aso del Instituto agronómico de Tokio [63], observa que la acción oxidante de los jugos vegetales, es más intensa en las plantas abonadas con cloruro manganoso, lo que demuestra que este metal, aumenta el poder de oxidación de las oxidasas. Estas ideas, según las cuales la acción del manganeso se residencia en el vegetal, no explican suficientemente, a juicio nuestro, la acción del manganeso como abono.

En dos parcelas de tierra que no se diferencien en más que en que a la una se haya adicionado sal de manganeso y a la otra no, se recogen cosechas distintas, más abundante en la parcela a que se añadió manganeso, en la cual es evidente, que para organizar mayor peso de tejidos vegetales, habrá sido necesaria, mayor cantidad de nitrógeno. Hemos creido, y esta fué idea que dirigió nuestro trabajo, que el manganeso no solo obra estimulando las reacciones de oxidación de la planta, sino que también, y creemos que esta acción es más importante, como activador de las reacciones catalíticas, por las cuales los micro-

organismos fijadores del nitrógeno atmosférico, realizan su función bioquímica.

No solo el manganeso, sino también el hierro, que de manera constante se encuentra con aquél en las tierras de cultivo, es complemento activo de la citada acción diastásica, y uno substituye a otro, en el esqueleto mineral de la diastasa, produciendo cada uno de ellos la activación de la acción catalítica.

El hierro y el manganeso complementos activos.

Para demostrar estas ideas, realizamos varias series de experiencias en colaboración con el Dr. Fernandez Benedid[64], cuyos resultados confirman nuestras ideas, y explican cuál es la acción, que el manganeso ejerce en las tierras de cultivo, y por qué aumenta su fertilidad.

Nuestras experiencias se realizaron cultivando en medio líquido y en cultivo puro, *Bac. radicicola*, *Clost. Pasteurianum* y *Acet. Chroococum*, empleando como caldo de cultivo, infusión de judías, con manita al 1 por 100, débilmente alcalinizada. Para cada uno de los dos metales, cuya acción activadora de catalisis vamos a medir y para cada uno de los tres microorganismos citados, cuyo cultivo puro poseemos, realizamos series de experiencias, que se comienzan por conocer la cantidad de nitrógeno total que posee el caldo de cultivo, antes de la siembra; despues se pone en varios matraces Erlenmeyer, iguales, 100 c. c. de este caldo se esterilizan al autoclave, y se siembran con el mismo microorganismo una serie, de la cual, uno se toma como término la comparación, pues no se le añade disolución salina del metal cuya acción estudiamos y a los otros, se añade despues de hecha la siembra, unos centímetros cúbicos de disolución valorada de cloruro férrico o de cloruro manganoso, para que el caldo contuviera en la serie, cantidades crecientes de estos metales en forma de ion. Se llevan estos matraces a la estufa, a 22° y al cabo de 25 días, se esterilizan al autoclave, y en el líquido de cada matraz, realizamos una determinación cuantitativa de nitrógeno total por el método de Kjeldahl, operando sobre el residuo de la evaporación a baño de maría, y valorando el amoníaco en la destilación, con solución de ácido sulfúrico valorado, del que cada centímetro cúbico, equivale a 0,00134 gr. de nitrógeno amoniacal.

Plan de trabajo.

Operando de este modo, obtenemos resultados perfectamen-

Cómo se evitan causas de error.

te comparables, pues quedan anuladas, una parte de causas de error, que actúan sobre la actividad del microbio; son estas: *a) la superficie del caldo*, que como hemos demostrado [58], influye en la cantidad de nitrógeno absorbido: como operamos en vasijas iguales y con masas iguales, los resultados que obtengamos, serán perfectamente comparables; *b) la alcalinidad del medio*, condición que requiere para su vida, cada uno de estos microorganismos, y como las disoluciones metálicas que añadimos, poseen por hidrolisis de la sal disuelta, reacción ácida, se evita esta causa de error, añadiendo a cada uno de los matraces, la cantidad de disolución de hidróxido de sodio, necesaria para neutralizar la acidez debida a la hidrolisis; *c) la edad y el vigor del microbio* que en cada serie, se siembra el mismo dia y del mismo cultivo, con lo cual esas variables son idénticas al hacer la siembra.

He aquí los resultados de una serie de experiencias que para conocer la acción del manganeso realizamos sobre:

Bacillus radicicola.

A) *Bacillus radicicola.*

Nitrógeno total de caldo antes de la siembra, 0,0289 grs. %.

Resultado de los análisis después del cultivo:

	Nitrógeno total. — Gramos.	Nitrógeno absorbido. — Gramos.
Caldo testigo.....	0,0320	0,0031
Caldo adicionado de 0,001 gr. de manganeso ion..	0,0325	0,0036
Id. id. de 0,003 gr. de id. ..	0,0381	0,0092
Id. id. de 0,006 gr. de id. ..	0,0385	0,0096
Id. id. de 0,009 gr. de id. ..	0,0330	0,0041
Id. id. de 0,012 gr. de id ..	0,0327	0,0038
Id. id. de 0,015 gr. de id. ..	0,0324	0,0035
Id. id. de 0,020 gr. de id. ..	0,0310	0,0021

Conclusiones.

El resultado de estas series de experiencias, que con otras análogas ha sido confirmado, demuestra que las bacterias de las nudosidades de las leguminosas, absorben el nitrógeno del aire, aun en ausencia del manganeso; que este metal modifica la ve-

locidad de la correspondiente reacción bioquímica, habiendo un *optimum* de manganeso, representado por 0,006 por 100, en el cual la cantidad de nitrógeno absorbido, en las condiciones de nuestras experiencias, alcanza un máximo.

Pero también se deduce, que rebasado este *optimum*, la acción del manganeso refrena la actividad del *bac. radicicola* para fijar nitrógeno atmosférico, y a dosis excesiva, a más de 0,015 gramos por 100, obra como catalizador negativo. Esta consecuencia de mis investigaciones, tiene confirmación experimental en la práctica agrícola, por los trabajos de Herr Leidreiter[65], que demuestran que el exceso de manganeso (no expresa qué cantidad), es perjudicial para el desarrollo de algunas leguminosas. Que la presencia del manganeso a dosis moderada, facilita el desarrollo de las leguminosas, aumentando el rendimiento de las cosechas, se ha demostrado en la práctica agrícola (Uchiyama, Leidreiter, Aso, Stoklasa, etc.), encontrando en estas experiencias confirmación, las conclusiones de mi trabajo.

B) Clostridium Pasteurianum. Clostridium Pasteurianum.

Nitrógeno total del caldo antes de la siembra, 0,0293 grs. %.

	Nitrógeno total. — Gramos	Nitrógeno absorbido. — Gramos
Caldo testigo.	0,0286	— 0,0007
Id. adicionado de 0,001 gr. de manganeso-ión..	0,0310	0,0017
Id. id. de 0,003 gr. de id. ..	0,0332	0,0039
Id. id. de 0,006 gr. de id. ..	0,0334	0,0041
Id. id. de 0,009 gr. de id. ..	0,0326	0,0033
Id. id. de 0,012 gr. de id. ..	0,0287	— 0,0006
Id. id. de 0,015 gr. de id. ..	0,0275	— 0,0018

El resultado de estos análisis pone de manifiesto, que el *clos. Pasteurianum* no funciona en sus cultivos puros como fijador del nitrógeno atmosférico, pero que por la presencia del manganeso, realiza esta función bioquímica. También en este caso como en el anterior, hay una cantidad de manganeso, *óptima*, que si se rebasa, el microbio realiza un trabajo menos activo, bajo el punto de vista de la fijación en las tierras del nitrógeno del aire.

Azotobacter chroococcum.

C) Azotobacter chroococcum.

Nitrógeno total del caldo antes de la siembra, 0,0326 grs. %.

	Nitrógeno total — Gramos	Nitrógeno absorbido — Gramos
Caldo testigo	0,0300	—0,0026
Id. adicionado de 0,001 gr. de manganeso-ion..	0,0332	0,0006
Id. id. de 0,003 gr. de id. ..	0,0371	0,0045
Id. id. de 0,007 gr. de id. ..	0,0349	0,0023
Id. id. de 0,010 gr. de id. ..	0,0342	9,0016
Id. id. de 0,015 gr. de id. ..	0,0338	0,0012
Id. id. de 0,020 gr. de id. ..	0,0334	0,0008

En este caso, los resultados son comparables con los obtenidos con el *Clostridium*: este *Azotobacter*, obra en ausencia del manganeso, mas bien como desnitrificante, pero en presencia del manganeso, fija el nitrógeno, observandose una dosis *óptima* de metal, muy análoga a la del caso anterior.

Acción del manganeso como abono.

Admitiendo como causa del efecto de las sales de manganeso como abono complementario, no la acción del manganeso activando las reacciones de nutrición de la planta, aunque ello tenga lugar, sino la acción del manganeso como complementario activo de las acciones diastásicas que con los trabajos citados creemos suficiente demostrada, tienen explicación satisfactoria todos los hechos que de la práctica agrícola se han deducido, tanto en los casos en que la adicion del manganeso, no produjo efecto alguno útil, o cuando fué perjudicial.

La solución económica y al propio tiempo técnica, del importantísimo problema de dotar a las plantas de alimento nitrogenado, debe ser tomando el nitrógeno del aire, pero no por vía química, que ello es caro, sino por bioquímica, que es el método suave y constante que la naturaleza practica, por reacciones catalíticas, que se verifican en las condiciones de temperatura y presión del medio ambiente. En resumen, la solución que como más racional proponemos[66], consiste, en aumentar, hasta el límite máximo posible, la velocidad de la reacción bioquímica de fijación de nitrógeno atmosférico, una vez sabido

que el manganeso es su complemento activo, y conocido cuál es la dosis óptima a que este metal, debe estar en presencia.

Aplicación del abono complementario.

A la aplicación del manganeso como abono complementario, debe preceder una determinación de la cantidad de manganeso ion que existe en la tierra y se añadirá el necesario para que la dosis no pase del *óptimum* determinado. Entiéndase bien que decimos manganeso ion, no manganeso total, y por lo tanto no nos referimos a la masa de metal que en forma insoluble se encuentre, proceda de las tierras o del abono añadido: es claro que el manganeso que en forma insoluble se encuentra en la tierra, lentamente se solubiliza y después actúa, pero para el

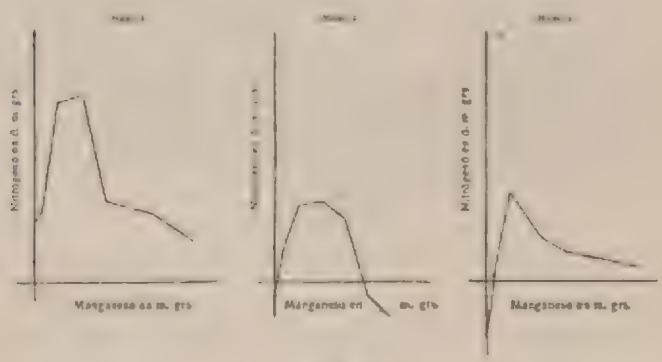


Figura 91

momento que se considere, no hay más acción que la del metal en forma soluble.

Representación gráfica.

Las gráficas de la figura 91 representan el resultado de nuestros trabajos para cada uno de los microorganismos estudiados; la núm. 1 se refiere al *Bac. radicicola*, la núm. 2 al *Clostridium Pasteurianum* y la núm. 3 al *Azotobacter chroococum*: en todas ellas cada miligramo del metal ion, representa en abscisas 1 mm. y cada 0,0004 de nitrógeno absorbido, representa en ordenadas 1 mm.

Interesa mucho, para conocer cual sea el mecanismo de la acción del manganeso en las reacciones bioquímicas a que nos venimos refiriendo, la diferente acción del metal disperso hasta el grado iónico que hemos considerado o si solamente se encuentra desmenuzado hasta el grado coloidal: en nuestras inves-

B) Clostridium Pasteurianum.

Clostridium Pasteurianum.

Nitrógeno total de caldo antes de la siembra. 0,0293 grs. %.

	Nitrógeno total. — Gramos	Nitrógeno absorbido. — Gramos
Caldo testigo.	0,0285	— 0,0008
Id. adicionado de 0,001 gr. de ferri-ion	0,0323	0,0003
Id. id. de 0,003 gr. de id.	0,0335	0,0042
Id. id. de 0,006 gr. de id.	0,0344	0,0051
Id. id. de 0,009 gr. de id.	0,0356	0,0063
Id. id. de 0,012 gr. de id.	0,0362	0,0069
Id. id. de 0,015 gr de id.	0,0338	0,0045

C) Azotolacter chroococum.

Azotobacter chroococum.

Nitrógeno total del caldo antes de la siembra. 0,0326 grs. %.

	Nitrógeno total — Gramos	Nitrógeno absorbido — Gramos
Caldo testigo	0,0308	— 0,0018
Id. adicionado de 0,001 gr. de ferri-ion.....	6,0338	0,0012
Id. id. de 0,003 gr. de id.	0,0376	0,0050
Id. id. de 0,006 gr. de id.	0,0398	0,0072
Id. id. de 0,009 gr. de id.	0,0407	0,0081
Id. id. de 0,012 gr. de id.	0,0393	0,0067
Id. id. de 0,015 gr. de id.	0,0348	0,0022

Representación gráfica.

Las gráficas de la fig. 92, representan respectivamente, los numeros 1, 2 y 3, los resultados analíticos obtenidos con cada uno de estos microorganismos, *bac. radicicola*, *clos. Pasteurianum* y *azot. chroococum*, y de estos resultados, confirmados después con otras varias experiencias se deduce, que el hierro como el manganeso, es complemento activo de las reacciones catalíticas por las cuales los citados microorganismos fijan el nitrógeno atmosférico y que como para el caso del manganeso, hay una dosis óptima, a partir de la cual, la cantidad de nitrógeno absorbido decrece.

Conclusiones.

La acción del ferri-ion, determina como la del manganeso, el que el *Clostridium* y el *Azotobacter*, obren como fijadores de nitrógeno, pero la del ferri-ion, es en general más eficaz y el microbio tolera cantidades mayores de hierro que de manganeso, alcanzando la cantidad de nitrógeno absorbido, valores mayores y realizándose ésta, entre límites más amplios que en el caso del manganeso.

Nuestras investigaciones sobre este asunto, confirman el hecho de que el trabajo bioquímico de los microorganismos, es susceptible de variación en cuanto a su intensidad: el acrecer la propiedad de fijar en las tierras y en las plantas el nitrógeno del aire, que tienen los organismos que estudiamos, es asunto de

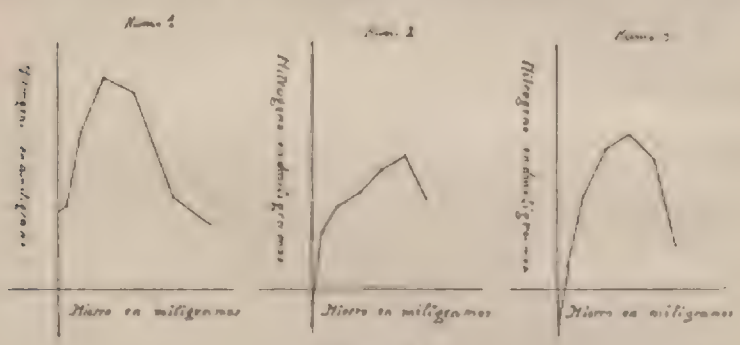


Figura 92

interés tan grande, que constituye el estudio bioquímico que presenta quizá, la mayor importancia económica.

No se nos oculta, que la importancia de estos trabajos, no por el valor de nuestras investigaciones, que es muy poco, sino por el interés tecnico social y económico que encierra el problema de la alimentación nitrogenada de los vegetales, por la asimilación del nitrógeno del aire, según la orientación que en estos trabajos marcamos, no se nos oculta, decimos, que nuestras experiencias deben ser ampliadas, operando con tierra como medio de cultivo de los fijadores de nitrógeno, que al fin es su medio natural, mejor que con los caldos, medios artificiales con que operamos. Los números que hemos obtenido, darán idea de la realidad, pero es claro que no son la realidad misma, considerado el problema en su aspecto cuantitativo, aunque sí lo sean en

su aspecto cualitativo. Tenemos hace ya algún tiempo en proyecto, una serie de experiencias análogas a las citadas, en cuanto a plan de trabajo, pero operando con tierras sintéticas, esterilizadas, etc., etc., todo un programa que sigue en proyecto y que quizá no pase jamás de esta categoría, porque como decimos al final del Prólogo, no hemos llegado a trabajar como quisiéramos, teniendo siempre que limitarnos a trabajar como podemos, y la investigación científica es penosa y casi siempre estéril, cuando solo se realiza por el esfuerzo de una sola voluntad y sin los medios materiales que son necesarios.

El trabajo de que en este libro damos cuenta, junto con las publicaciones que al final citamos, son *pruebas documentales* de la labor realizada en el *Laboratorio de investigaciones bioquímicas* que hemos fundado en el de Química general de esta Universidad. La obra está comenzada; nuestro deseo es llegar a reunir un pequeño núcleo de aficionados a la investigación científica, para hacer Ciencia Española, en materia de estudio que como la Bioquímica, tanto interés presenta, por ser camino muy asequible a las investigaciones biológicas, y andando el tiempo, será el fundamento racional de la Biología.

NOTA BIBLIOGRÁFICA DE LAS PUBLICACIONES

A QUE HEMOS HECHO REFERENCIA EN ESTE CAPÍTULO

1. J. Plans, *Lecciones de termodinámica, con aplicación a los fenómenos químicos*, p. 65. Zaragoza, 1913.
2. Swarts, *Cours de Chimie inorganique*, p. 14. París, 1908.
3. Ostwald, *Ueber die Katalyse*. Leipzig, 1911.
4. Traube, *Journ. de Chim. phys.*, t. III, p. 602, año 1905
5. Playfair, *Jahres bericht der Chem.*, p. 325, año 1847.
6. Raschig, *Zeitsrift f. angen. Chem.*, t. XIX, p. 1748, año 1906.
7. Schönbein, *Jahresbericht der Chem.*, p. 267, año 1855 y p. 62, año 1862.

8. Paal y Gérum, *Ber derd chem. Gess.*, t. XLI, p. 2273, año 1908.

9. Löw, *Journ. f. prakt. Chem.*, t. XI, p. 372, año 1875.

10. Bredig y Fortner, *Ber. d. chem. Gess.*, t. XXXVII, p. 798, año 1904.

11. Euler, *Ber. d. chem. Gess.*, t. XXXIV, p. 198, año 1901.

12. Mendelejeff, *Ber. d. chem. Gess.*, t. XIX, p. 456, año 1886.

13. Barendrecht, *Zeitsch. f. physik. Chem.*, t. XLIX, año 1904 y t. LIV, año 1906.

14. Achalme, *Electronique et Biologie*, p. 300. París, 1913.

15. Matignon, *Leçons sur la Catalyse faites au Collège de France. Notice sur les trabaux scientifiques*. París, 1907.

16. Arthus, *Precis de Chimie physiologique*, 7.ª edic., p. 118. París, 1913.

17. Guilleminot, *Les Nouveaux horizons de la Science*, t. III, p. 138. París, 1914.

18. A. de Gregorio Rocasolano, *Influencia de la forma de las masas liquidas que fermentan, en la cantidad de alcohol producido y la duración del fenómeno*, «Anales de la F. de Ciencias de Zaragoza», n.º 2. Junio, 1907.

19. Buchner, *Alkoholische Gärung ohne He fezellen*, «Ber. d. deutschen Chem. Gessell.», t. XXX, año 1897.

20. A. G. Phocas, *Revue Scientifique*. París, 9 Noviembre 1912.

21. J. Effront, *Les catalyseurs Biochimiquè dans la vie et dans l'Industrie*, p. 26 y p. 720. París, 1914.

22. Bourquelot, *La synthese des glucosides a l'aide de l'emulsine*. Lección inaugural del curso. París 15 Noviembre 1912. «Rev. Scientifique», 4 Enero 1913.

23. Bourquelot y Aubry, *Comptes Rendus de l'Acad. des S.* París 12 Marzo 9917.

24. Loeb, *Dynamique des phenomenes de la vie*, p. 123.

25. Cl. Bernard, *Cours de Physiologie generale au Museum d' H. Nat.*, «Revue Scientifique», p. 584, año 1876.

26. Chodat, *Principes de Botanique*. París, Ginebra 1911.

27. E. Duclaux, *Traité de Microbiologie*, t. II. *Diastases toxines et venins*.

28. Mlle. Philoche, *Journ. Chimie physique*, t. XLVI, p. 212 y 355, año 1908.

29. Brow y Morris, *On the germination of some of the gramineæ*, «Journ. Chem. Soc.», p. 458, año 1890.

30. J. H. Van t' Hoff, *La Chimie physique et ses aplications*, p. 53. París 1903.

31. A. Croft Hill, *Reversible Zymohydrolysis*. «Trans. chem. Soc.», t. LXXIII, año 1898. *The reversibility of Enzyme or Ferment Action*. «Trans. chem. Soc.», t. LXXXIII, año 1903.

32. Fischer y Armstrong, *Synthese einiger neuer Disaccharide.* «Ber. d. deuts. chem. Gesell.», t. XXXV, p. 3144, año 1912.

33. Kastle y Lœvenhart, *On lipase, the Pat. splitting Enzyme, etc.* «Amer. chem. Journ.», t. XXIV, año 1900.

34. Diederich, *L'action diastasique dans les fermentations industrielles*, p. 161. París, 1906.

35. A. de Gregorio Rocasolano, *Anales de la F. de Ciencias.* Zaragoza, Marzo 1907.

36. Ch. Richet, *De l'emploi alternant des antiseptiques.* «Comp. Ren. de l'Acad. des S.». París 20 Noviembre 1916.

37. O'Sullivan y Thompson, *Journ. of. th. Chem. Soc.*, t. LVII, p. 834, año 1890.

38. Wilhelmy, *Pogg. Ann.*, t. LXXXI, p. 413.

39. Adrian Brow, *Journ. of the Chemical Society*, p. 373, año 1902.

40. V. Henri, *Lois generales de l'action des diastases.* París 1903.

41. Nicloux, *Contribution a l'etude de la Saponification.* París, 1906.

42. Buchbock, *Zeitsrift. f. physik Chem.*, t. XXXIV, p. 229, año 1900.

43. Pissarjewski, *Zeits. f. phy. Chem.*, t. LXIII, p. 257-457, año 1908.

44. Achalme y Bresson, *Comtes Rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLII, p. 1328 y 1420, año 1911.

45. Bredig y Toletow, *Zeitsch. f. Electroch.* t. XII, p. 581, año 1906.

46. Senderens, *Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences.* París, t. CXLIV, p. 1109.

47. Bredig, *Anorganiche Fermente.* Leipzig, 1901.

48. G. Bertrand, *Les ferments solubles ou diastases.* Conferencia ante la Asoc. franc. pour l'avancement des Sciences, 16 Febrero 1909.

49. Effront, *Les enzymes et leurs applications*, p. 334. París, 1899.

50. H. Yoshida, *Journ. of the Chemical Society*, p. 472, año 1883.

51. N. Bertrand, *Sur le latex de l'arbre a laque.* «Comptes Rendus de l'Acad. de S.», t. CXVIII, p. 1215. París, 1894.

52. Bertrand, *Comp. R. de l'Acad. des S.*, t. CXX, p. 266 y t. CXXI, p. 166. París, año 1895.

53. Bertrand, *Sur l'action oxydante des sels de manganese etc.* «C. R. de l'Acad.», t. CXXIV, p. 1555, año 1897.

54. A. de Gregorio Rocasolano, *Lecciones de microbiología agrícola.* Curso de conferencias de extensión universitaria. Zaragoza 1913.

55. Berthelot, *Comptes Rendus de l'Acad. des S.*, t. CI. París 1885.

56. Hellreigel, *Congreso de Naturalistas y Médicos.* Berlín, 1886.

57. Kossowicz, *Agrikulturmykologie.* Berlín, 1912.

58. A. de Gregorio Rocasolano, *Investigaciones sobre la alimentación nitrogenada de las plantas por vía bacteriana.* «Boletín de la R. Soc. Española de H. Natural», págs. 113, 141 y 199, Febrero, Marzo, Abril, 1915.

59. Remy y Rosing, *Centralblatt für. Bakteriologie*, t. XXX, año 1911.

60. J. Barcia Trelles, *El manganeso en la vida vegetal y su utilización agrícola como abono catalítico.* «Asociación española para el Progreso de las Ciencias», Congreso de Granada, 1912.

61. E. Castell Oria, *Empleo de las sales de manganeso como abono complementario.* Valencia, 1915.

62. G. Bertrand, *Sur le role des infiniment petits chimiques en Agriculture.* Conferencia en el VIII Congrés international de Chimie appliquée, New York, Septiembre 1912.

63. K. Aso, *Bull. of the Collége of Agriculture.* Tokío, 1901 a 1907.

64. A. de Gregorio y S. Fernández Benedid, *Influencia del mangano-ion y del ferri-ion, sobre la cantidad de nitrógeno atmosférico absorbido por microorganismos fijadores del nitrógeno.* «Boletín de la R. S. Española de H. Natural». Mayo 1915.

65. Leidreiter, *Die Ernahrung der Pflanze.* 15 Marzo 1911.

66. A. de Gregorio Rocasolano, *El manganeso como catalizador de las reacciones por las cuales el nitrógeno atmosférico, por vía bacteriana, es asimilado por las plantas.* «Rev. de la R. Acad de Ciencias E. F. y N. de Madrid» Abril, 1916 y reproducido en «Revue Scientifique», 11-18 Nov. 1916, «Bull. del Inst. international d' Agriculture», Septiembre de 1916.

ÍNDICE

PÁGINAS

PRÓLOGO 3-7

CAPÍTULO I.—IDEAS PRELIMINARES.

Constitución de la materia 7-13

Teoría electrónica (7). Unidad de la materia (10). Combinación química (11). Energía interna (11). Compuestos inorgánicos y orgánicos (12). Seres vivos e inertes (13).

Concepto de la vida 13-19

Definiciones (14). Vitalismo (15). Hipótesis mecánicas (16). Las formas substanciales según Santo Tomás (17). Términos en que debe plantearse este asunto (18).

Origen de la vida 20-25

Cómo se interpreta el origen de la vida (20). La generación espontánea (21). Trabajos de Pasteur y de Maumus (22). Trabajos de Bastian (23). Biología sintética (23). Plasmogenia (24).

Concepto de la Biología general 25-27

Caracteres vitales 27-38

Evolución, crecimiento, nutrición (28). Crecimientos osmóticos (29). La selección de materiales en la nutrición celular (30). Modos de crecimiento (31). Reproducción (33). Fecundación (35). Antisépticos y tóxicos (35). Adaptación (36). Vejez y muerte (37). La vida de la materia es un fenómeno físico-químico (38).

Conservación y degradación de la energía, en el transcurso de las reacciones vitales 38-43

Conservación de la energía (39). Experiencias de Atwater (39). Trabajo mental (40). Experiencias de Chauveau (40). Transformación de la energía química en mecánica (41). Degradación de la energía (42).

PÁGINAS

Concepto de la materia viva..... 43-46

Citoplasma y núcleo (43). La materia viva es un líquido viscoso (44). Probable existencia de unidades vivientes más sencillas que la célula (45).

Bibliografía..... 46-48

CAPÍTULO II.—Estudio de los sistemas dispersos.

Generalidades..... 49-56

Teoría cinético molecular (56). Acción de un líquido sobre un sólido (51). Diversos modos de dispersión (53). Sistemática de Ostwald (55). Grado de dispersión (55).

Las disoluciones verdaderas (solutoides)..... 56-71

Teoría de la ionización (56). Concepto del ion (57). Grado de disociación iónica (59). Difusión de las disoluciones (60). Cristaloides y coloides (60). Membranas semipermeables (61). Presión osmótica (61). Turgescencia y plasmolisis (63). Las leyes de los gases, se cumplen en las disoluciones (64). Crioscopia (66). Tonometría (68). Ebulloscopia (69).

Estado coloidal (dispersoides)..... 71-98

Concepto del estado coloide (71). Estabilidad de los sistemas coloidales (71). Fenómeno de Tyndall (73). Primeras observaciones (74). Nomenclatura (75). El estado coloide, como propiedad general de la materia (76). Obtención de cuerpos en estado coloidal (77). Métodos por dispersión, físicos y químicos (78). Métodos por condensación (80). Comparación de los sistemas coloidales con los solutoides (85). Difusión de coloides (85). Presión osmótica (87). Tonometría (87). Continuidad entre solutoides y dispersoides (88). Cristalización de los coloides (91). Coagulación (94). Química coloidal (95). La Química coloidal y la Biología, Terapéutica, Química agrícola, Mineralogía y tecnología (96).

Suspensiones y emulsiones..... 98-106

Constitución de estos sistemas (98). Estabilización (99). Líquidos turbios y gases nebulosos (100). Trabajos de Perrin (101). Las leyes de los gases, se cumplen en las emulsiones diluídas (103). Una emulsión, es una atmós-

PÁGINAS

fera en miniatura (105). Constitución químico-física de la materia viva (106).

Bibliografía 108-109

CAPÍTULO III.—COMPONENTES DE LA MATERIA VIVA.

Generalidades 110-113

Cómo se hace el estudio químico de un cuerpo (110). Isomería (111). Síntesis orgánica (112).

Agua y materias minerales 113-118

El agua componente esencial de la materia viva y medio de dispersión (113). Cómo se encuentra el agua en la materia viva (114). Acción de las sales (115). Importancia de la materia mineral en los fenómenos vitales (116).

Compuestos oxihidrogenados 118-126

Formación de los hidratos de carbono (118). Transformación de la energía electromagnética en química (119). Constitución de los compuestos hidrocarbonados (119). Monosacáridos (120). Polisacáridos (122). Materias grasas (123). Su origen (124). Saponificación (125).

Compuestos nitrogenados 126-146

Importancia de los compuestos albuminoideos en Bioquímica (126). Constitución de la molécula albuminoidea (128). Métodos analíticos (128). Amino ácidos (129). Los amino ácidos en Fisiología y en Biología (133). Métodos sintéticos (134). Síntesis de los amino ácidos (134). Polipéptidos (135). Posibilidad de que cada organismo posea sus albuminoides individuales (138). Síntesis bioquímica (139). Reacciones de los albuminoides (141). Disgregación de los albuminoides (142). Alcaloides (143). Purina y sus derivados (144). Urea (145). Evolución de la materia nitrogenada en los organismos (145).

Los lipoides 146-149

Carácter general de los lipoides (146). Los lipoides en los fenómenos vitales (148).

PÁGINAS

Analogía química entre la materia viva y la materia inerte 149-155

Estabilización de las albúminas (150). La coagulación de la materia viva (151). Interpretación de los hechos de observación (152). Inmortalidad de los organismos monocelulares (154).

Bibliografía 151-157

CAPÍTULO IV.—Medios de observación.

El ultramicroscopio 158-181

El estado coloidal es esencial en la materia viva (158). Espectros infra rojo, visible y ultravioleta (160). Límite de visibilidad (161). Formación de la imagen en el microscopio (161). Difracción (162). Por qué las micelas no son visibles al microscopio (163). Principio del ultramicroscopio (164). Visibilidad de las partículas ultramicroscópicas (165). Diversos aparatos ideados (166). Condensador cardioide (170). Cámaras de cuarzo (171). Medios de iluminación (172). Disposición del aparato que empleamos (173). Agua ópticamente vacía (174). Dispersoides albuminoideos, su preparación y puesta en observación (176). Aplicaciones del ultramicroscopio en Biología (178).

Bibliografía 181-182

CAPÍTULO V.- Movimiento browniano 183-217

Primeras observaciones (184). Caracteres del movimiento browniano (185). Variaciones de velocidad (186). Ideas de Wiener (188). Teoría de Einstein y Smoluchowski (189). Actividad del movimiento browniano (190). Ecuación de Einstein (190). Comprobación experimental (192). Trabajos de Perrin (193). Realidad molecular (194). El movimiento browniano en la materia viva (195): en dispersoides albuminoideos (196). Fase de traslación (197). Métodos de trabajo (198). Empleo de la cámara clara (199). Resultados obtenidos (200). Albúminas y globulinas (201). Aplicación del cinematógrafo (205). Detalles de técnica para obtener gráficas (206). Determinación del diámetro de las micelas por aplicación de la fórmula de Einstein (207). Los

PÁGINAS

valores encontrados son relativos (209). Fase de rotación (209). Combinación de microscopios para obtener grandes aumentos (210). Estudios cinemáticos (211). El movimiento browniano de rotación se compone con el de traslación (212). Cómo puede observarse el movimiento browniano modificado que posee la materia viva (213). Estudio ultramicroscópico de la célula viva (214). El citoplasma heterogéneo (215). Tránsito de la materia viva a sistema coloidal (216).

Bibliografía..... 217-218

CAPÍTULO VI.—La fase dispersa en los sistemas coloidales..... 219-249

Grados de dispersión en la materia viva (219). La micela unidad física (220). Forma de la micela (220). Sistemas resolubles e irresolubles (221). Determinación del diámetro de las micelas; su importancia (222). Métodos interferenciales: el rayo de luz como micrómetro (224). Variación del tamaño de las micelas (227). Hechos de observación (228). Efectos de las fuerzas moleculares (229). Fenómenos de adsorción (230). Adsorción por los coloides (231). Naturaleza de las fuerzas que producen la adsorción (232). Trabajos de Arrhenius (233). Coloides hidrófilos e hidrófobos (235). La micela albuminoidea, es un compuesto de adsorción (236). Energía de superficie (236). Tensión superficial (237). Envejecimiento de los coloides (238). Teoría químico coloidal de la vejez (239). Actividad bioquímica de la materia viva (239). La carga eléctrica de las micelas (240). Coloides positivos y negativos (240). Transporte eléctrico (240). Origen de la carga de las micelas (241). Osmosis eléctrica (242). Estudio macroscópico y ultramicroscópico del transporte eléctrico por los coloides (243). Métodos experimentales (244). Constitución del electrargol (245). Variación del signo de la carga (246). Propiedades ópticas de las micelas (247). Orientación de micelas en un campo magnético (248).

Bibliografía..... 249-250

PÁGINAS

CAPÍTULO VII.—Estudio de la coagulación.

Ideas generales..... 251-257

Concepto de la coagulación (251). Causas que producen la coagulación (252). Coloides reversibles e irreversibles (253). Coloides protectores (255). Número de oro (256).

Coagulación por el calor..... 257-259

El calor disocia los compuestos de adsorción (257). Hechos de observación (258). Las coagulaciones por el calor, son incompletas (259).

Coagulación por acciones iónicas..... 259-271

Mecanismo de este modo de coagulación (259). Se forman compuestos de adsorción (260). Punto isoeléctrico (261). Ley de Hardy (262). Influencia de la valencia del ion (262). Analogía entre la coagulación y la precipitación (263). Estructura del coágulo (264). Cristalización del coloide (265). Perturbación de la cristalización por la presencia de coloides (266). Formas que adopta la fase dispersa separada (269). Precipitaciones en presencia de albuminoides (270).

Coagulación por variación de medio de dispersión.. 271-274

Coagulación y precipitación (271). Formas del coágulo (273). Caso de cristalización del coloide (274).

Coagulación por mezcla de coloides..... 274-277

Diastasas coagulantes (275). Coagulinas y lisinas (276).

Coagulación eléctrica..... 277-280

Cómo puede operarse (277). Cristalización del coloide (278). Caso de coloides irreversibles (278). Caso de reversibles (279). Importancia del método (280).

Coagulación por los cuerpos radiactivos..... 280-283

Primeras ideas (280). Radiaciones que emite el radio (280). La radiactividad sobre la materia viva (281).

Bibliografía..... 283-284

PÁGINAS

CAPÍTULO VIII.—Catalisis bioquímica.

Ideas generales. Acciones diastásicas..... 285-325

Reacciones totales y parciales (285). Reacciones reversibles (286). Equilibrio químico (287). Velocidad de reacción (288). Ley de las masas (288). Constante de equilibrio (289). Falso equilibrio (291). Catalisis química (292). Catalizadores positivos o negativos (292). La causa de los fenómenos catalíticos (294). Teorías físicas (294). Formación de compuestos intermediarios (295). Los catalizadores como modificadores de la velocidad de reacción (295). La Química biológica, es Química catalítica (296). Catalizadores bioquímicos (297). Concepto de las diastasas (297). Experiencia de Buchner (299). Las diastasas en Biología (299). Clasificación (300). Constitución química de las diastasas (301). Diversos tipos de diastasas (302). Síntesis por las diastasas (303). Nomenclatura de las diastasas (305). Propiedades (306). Acción del calor sobre las diastasas (306). El equilibrio químico en las acciones diastásicas (307). Reversibilidad (308). Analogías entre las diastasas y la materia viva (309). Las diastasas se habitúan a sus tóxicos (309). Estudio de las acciones diastásicas (310). Investigaciones sobre la sucrasa (311). Ley logarítmica (313). Influencia de la viscosidad (314). El movimiento browniano en la acción catalítica (315). Los metales muy divididos como catalizadores (316). Fermentos metálicos (317). Dónde reside el poder catalítico de las diastasas (318). Las oxidasas (320). Estudio de la lacasa (320). Materias que se complementan (322). Complementos activo y activante (323). Cómo pueden considerarse constituídas las oxidasas (324). Los infinitamente pequeños químicos (325).

Acciones diastásicas por las cuales asimilan las plantas el nitrógeno atmosférico..... 325-347

Cómo asimilan los vegetales algunos de sus componentes (326). De dónde procede el nitrógeno que asimilan las plantas (327). Abonos nitrogenados (328). Solución técnica del problema (328). Solución técnica y económica (329). La fertilidad de los suelos (329). La tierra no es un soporte inerte (330). Trabajo bioquímico de los microorganismos de las tierras (331). La fijación del ni-

PÁGINAS

trógeno en las plantas es principalmente de origen microbiano (332). Orientación de nuestros trabajos (333). Primeras experiencias (333). Interpretación de los resultados (334). Iones y micelas (336). Abonos biológicos y catalíticos (337). Plan de trabajo (339). Cómo se evitan causas de error (340). Conclusiones (340). Acción del manganeso como abono (342). Acción del ferrion (344). Conclusiones (346).

Bibliografía..... 347-350

TRABAJOS DEL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES BIOQUÍMICAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE ZARAGOZA

A. de Gregorio Rocasolano y S. Fernández Benedid:

«Influencia del mangano-ion y del ferri-ion en la cantidad de nitrógeno atmosférico, absorbido por el *Bac. radicicola* el *Clost. Pasteurianum* y el *Azot. chroococum*». Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural.—Mayo 1915.

A. Armisén Berastegui:

«Estudio del transporte eléctrico en los hidrosoles Bredig». Zaragoza, 1917.

A. de Gregorio Rocasolano:

«Estudio de la acción del anhidrido sulfuroso, sobre una raza del *Sacch. ellipsoideus*». Anales de la Facultad de Ciencias de Zaragoza. Núm. 1. Marzo 1907.

«Influencia de la forma de las masas líquidas que fermentan, en la cantidad de alcohol producido, y en la duración del fenómeno». Anales de la Facultad de Ciencias de Zaragoza. Núm. 2. Junio 1907.

«Lecciones de microbiología agrícola». En los estudios de ampliación organizados por la Facultad de C. de Zaragoza.

«Investigaciones sobre la alimentación nitrogenada de las plantas por vía bacteriana». Tres comunicaciones. Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Febrero, Marzo y Abril 1915.

«Sensibilidad de los coloides reversibles a las acciones iónicas». Rev. de la Acad. de Ciencias de Zaragoza. Mayo 1916.

«El manganeso como catalizador de las reacciones bioquímicas por las cuales el nitrógeno atmosférico, por vía bacteriana, es asimilado por las plantas». Rev. de la R. Academia de Ciencias E., F. y N. de Madrid.—Abril 1916.

«Estudios sobre el movimiento browniano». Institut d'estudis catalans. Societat de Biología.—Barcelona, 1916.

«Estudios químico-físicos sobre materia viva». Veinte conferencias. En los estudios de ampliación, organizados por la Facultad de Ciencias de Zaragoza, en el curso 1915-1916.

BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA
BNE
1104238846

Precio: 12 pesetas.

Estudios químico físicos sobre la Materia viva

7399